

POLLYANA HAMMERSCHMIDT ALMEIDA

**EFEITO DA APLICAÇÃO FOLIAR DE CÁLCIO CRESCIMENTO E NO
CONTROLE DA INCIDÊNCIA DE QUEIMA DOS BORDOS EM ALFACE**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Botânica da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Erika Amano

Co-orientador: Prof. Dr. Átila
Francisco Mógor

CURITIBA

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Botânica



Título: Mestre em Ciências Biológicas - Área de Botânica.

Dissertação: “APLICAÇÃO FOLIAR DE CÁLCIO NO CRESCIMENTO E CONTROLE DA QUEIMA DOS BORDOS EM ALFACE”

Candidato: Pollyana Hammerschmidt Almeida

Comissão Examinadora:

Dra. Érika Amano (UFPR) – (Presidente)

Dr. Cícero Deschamps (UFPR) – (Membro Titular)


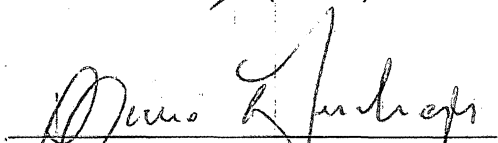

Dr. Luciana Lopes Fortes Ribas (UFPR) - (Membro Titular)

Dra. Cleusa Bona (UFPR) – (Suplente)

Parecer: A Comissão Examinadora, reunida nesta data, nas dependências do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, analisando o conteúdo, a forma, a apresentação e a defesa da Dissertação, APROVA O TRABALHO DE CONCLUSÃO do(a) aluno(a) Pollyana Hammerschmidt Almeida. É de parecer que constitui um trabalho científico e recomenda a sua publicação, após as correções sugeridas.

O candidato tem 60 (sessenta) dias para as correções propostas pela Comissão, para que se possa dar continuidade ao processo.

Curitiba, 27 de abril de 2015.


Dra. Érika Amano (UFPR)
Dr. Cícero Deschamps (UFPR)
Dr. Luciana Lopes Fortes Ribas (UFPR)
Ciente Candidato



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Botânica





“APLICAÇÃO FOLIAR DE CÁLCIO NO CRESCIMENTO E CONTROLE DA QUEIMA DOS BORDOS EM ALFACE”

por

Pollyana Hammerschmidt Almeida

**Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão
formada pelos doutores**


Dra. Erika Amano (UFPR)
Dr. Cícero Deschamps (UFPR)
Dr. Luciana Lopes Fortes Ribas (UFPR)

Curitiba, 27 de abril de 2015.



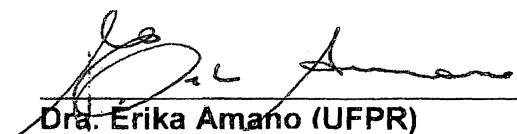

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Botânica



302^a.
2015

Ata de Julgamento da Dissertação de Mestrado do pós-graduando **Pollyana Hammerschmidt Almeida**. Aos 27 dias do mês de abril do ano de 2015, às dezessete horas e trinta minutos na Sala 421, no Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, na presença da Comissão Examinadora, composta pela **Dra. Érika Amano (UFPR)**, presidente e orientador(a), **Dr. Cícero Deschamps (UFPR)** e **Dr. Luciana Lopes Fortes Ribas (UFPR)** como titulares, foi aberta a sessão de julgamento da Dissertação intitulada: “**APLICAÇÃO FOLIAR DE CÁLCIO NO CRESCIMENTO E CONTROLE DA QUEIMA DOS BORDOS EM ALFACE**”. Após a apresentação, perguntas e esclarecimentos acerca da Dissertação, a Comissão Examinadora **APROVA O TRABALHO DE CONCLUSÃO** do(a) aluno(a) **Pollyana Hammerschmidt Almeida**. Nada mais havendo a tratar, encerrou-se a sessão da qual foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos componentes da Comissão Examinadora.


Dra. Érika Amano (UFPR)
Dr. Cícero Deschamps (UFPR)
Dr. Luciana Lopes Fortes Ribas (UFPR)

Dedico este trabalho à minha mãe, Célia, pelo apoio sempre dado a mim. À minha família por acreditar em minha capacidade. E aos meus amigos que sempre me deram forças para continuar.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, prof. Dra. Erika Amano, pelo acompanhamento, orientação e amizade.

Ao meu co-orientador, prof. Dr. Átila Francisco Mógor, pela orientação e disponibilidade de recursos.

Ao curso de Pós-Graduação em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de realizar o trabalho.

A todos os professores, os quais participaram da minha formação.

Aos meus amigos, pelos momentos de compreensão e desabafo, pelos cafés, pela troca de experiência e apoio, em especial à minha amiga Amanda Gailit Balliana.

Aos estagiários que participaram da construção do trabalho, Jonathan Heinrichs, Alaide Ziemmer e Sophia Louise Karl, pela cooperação e auxílio.

O futuro não é um lugar onde estamos indo, mas um lugar que estamos criando. O caminho para ele não é encontrado, mas construído e o ato de fazê-lo muda tanto o realizador quanto o destino.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

O cálcio (Ca) é um macronutriente indispensável para o crescimento das plantas, é imóvel na planta e o seu transporte dependente da transpiração. Está associado principalmente com a rigidez estrutural da parede celular e manutenção da membrana plasmática. A deficiência de Ca na planta desencadeia um distúrbio fisiológico, conhecido como queima dos bordos. Os sintomas iniciais é menor crescimento, evoluindo para manchas marrons nas folhas mais novas podendo chegar à necrose. Para suprimir esse distúrbio, produtos a base de Ca estão sendo aplicados via foliar, pois podem fornecer rapidamente o nutriente para o órgão de interesse. O trabalho foi dividido em dois experimentos, com objetivos distintos. O primeiro procurou avaliar se a aplicação foliar de Ca interfere no acúmulo de biomassa e quantidade de Ca no tecido foliar. O segundo objetivou testar se a aplicação foliar de cloreto de Ca, óxido de Ca e quelato de Ca diluídos em quatro doses diminui a incidência de queima dos bordos em alface crespa. Concluiu-se que a aplicação foliar de Ca resulta em aumento no acúmulo de biomassa e concentração de Ca na folha, assim como tem potencial para diminuir a incidência de queima dos bordos.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L.; deficiência de cálcio; adubação foliar; cloreto de cálcio, óxido de cálcio, quelato de cálcio

ABSTRACT

Calcium (Ca) is an essential macronutrient for plant growth, is immobile in the plant and its transport dependent of the perspiration. It is mainly associated with the cell wall structural rigidity and maintaining the plasma membrane. The Ca deficiency in the plant triggers a physiological disorder, known as tip burn. Initial symptoms is lower growth, developing into brown spots on younger leaves up to necrosis. To suppress this disorder, Ca-based products are being applied to the leaves as they can quickly provide the nutrient for the organ of interest. The work was divided into two experiments, with different objectives. The first assessed whether foliar application of Ca interferes with the accumulation of biomass and amount of Ca in the leaves. The second objectived to test a foliar Ca chloride, Ca oxide and Ca chelate diluted in four doses decreases the incidence of tip burn in crisphead lettuce. It was concluded that the foliar application of Ca results in an increase in the accumulation of biomass and concentration of Ca in the leaf, and has the potential to reduce the incidence of tip burn.

Keywords: *Lactuca sativa* L .; calcium deficiency; foliar fertilization; calcium chloride, calcium oxide, calcium chelate

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA I.01 - Número de folhas (A), biomassa (B), espessura foliar (C) e concentração de Ca na folha (D) em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle... 28
- FIGURA I.02 - Sessões transversais do ápice da folha do 4º nó de alface testadas com vermelho de rutênio para detecção histoquímica de pectina nos tratamentos: controle (A), 1,0 L ha⁻¹ (B) e 2,0 L ha⁻¹ (C) de CaCl₂ e 4,0 L ha⁻¹ de CaO (D). 50 µm..... 29
- FIGURA II.01 – Massa fresca (A), incidência de queima dos bordos (B) e concentração de Ca na folha (C) em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle..... 54
- FIGURA II.02 – Folhas com sintomas de queima dos bordos: visual (A), vazamento de conteúdo citoplasmático (B, C), colapso das células (D), morte celular (E); folha com cristais de oxalato de Ca (F) resultante da aplicação foliar de quelato-Ca aplicada na dose 2,0 L ha⁻¹..... 55

LISTA DE TABELAS

TABELA I.01 - Análise de variância de número de folhas, biomassa (g) e espessura foliar (mm) de alface obtidos pelo fatorial com três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.....	27
TABELA I.02 - Número de folhas, biomassa (g) e espessura foliar (mm) de alface resultantes da aplicação foliar com três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle submetidos ao teste de Tukey (0,05) e Dunnett (0,05)..	27
TABELA II.01 - Análise de variância para as variáveis de número de folhas, massa fresca (g), incidência de tipburn (%) e volume de raiz (cm ³) de em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.....	52
TABELA II.02 - Número de folhas, volume de raiz e incidência de queima dos bordos de em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle....	52
TABELA II.03 - Massa fresca e incidência de queima dos bordos em alface resultantes em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.....	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

2 CAPÍTULO I – ACÚMULO DE BIOMASSA E ALTERAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE Ca EM FOLHAS DE ALFACE SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE CÁLCIO

RESUMO	16
ABSTRACT	17
2.1 INTRODUÇÃO	18
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.3 RESULTADOS.....	20
2.4 DISCUSSÃO	21
2.5 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	30

3 CAPÍTULO II – INCIDÊNCIA DE QUEIMA DOS BORDOS EM FUNÇÃO DE APLICAÇÕES FOLIARES DE CÁLCIO EM ALFACE

RESUMO	40
ABSTRACT	41
3.1 INTRODUÇÃO	42
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.3 RESULTADOS.....	45
3.4 DISCUSSÃO	46
3.5 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	56

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
-------------------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cálcio (Ca) é um macronutriente secundário indispensável para o crescimento das plantas, sendo absorvido pelas raízes na forma de cátion divalente (Ca^{++}) e distribuído via xilema para outras partes da planta. O Ca encontra-se na parede celular, nas membranas, vacúolo e no citosol, e suas funções são definidas pela concentração do elemento (HEPLER, 2005).

A função estrutural está relacionada à imobilização do Ca pelo grupamento carboxílico do ácido poligalacturônico, originando o pectato de Ca da lamela média (MARSCHNER, 1995). Além disso, o Ca está envolvido com a permeabilidade da membrana plasmática, controlando e estruturando-a. O Ca se liga a fosfolipídeos, estabilizando as duas camadas de lipídeos, proporcionando maior integridade estrutural às membranas celulares (WHITE e BROADLEY, 2003).

O Ca também atua como elemento regulatório, como contra-íon para ânions orgânicos e inorgânicos no vacúolo (TUTEJA e MAHAJAN, 2007). O Ca também auxilia no processo de divisão celular conhecido como mitose, atuando na formação dos microtúbulos, necessários na anáfase, e auxiliando na expansão celular (FELLE, 1988). Ele é um importante mensageiro intracelular que gera respostas em pontos específicos em função de sinais externos ativando a síntese de proteínas específicas (proteínas quinases dependentes de cálcio, calmodulina), além da indução de genes reguladores de estresse (HEPLER, 2005; WHITE e BROADLEY, 2003). Quando há excesso de Ca no tecido, a planta precipita-o no vacúolo em forma de cristais insolúveis de oxalato de Ca.

A deficiência de Ca desencadeia distúrbios fisiológicos em diversas culturas, como coração negro em batata, podridão apical em tomate, queima dos bordos em alface, couve-flor, repolho, couve chinesa, cerefólio, cebola, chicória, escarola e erva-doce (OLLE E BENDER, 2009).

Baixa concentração de Ca na planta torna a parede celular mais flexível e possibilita o seu rompimento, pois o Ca forma o pectato de cálcio presente na parede celular. Outra consequência da baixa concentração de Ca é fuga de íons e metabólitos pela membrana plasmática, uma vez que o Ca

liga-se a fosfolipídeos, estabilizando as bicamadas lipídicas e proporcionando integridade estrutural das membranas celulares (MARSCHNER, 1995).

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a principal hortaliça foliosa produzida e consumida no mundo, com produção de 525.602 t no Brasil (IBGE, 2006). Devido a sua importância econômica, busca-se aumentar a produtividade da cultura e melhorar a qualidade final do produto. Devido a grande importância do Ca para o seu desenvolvimento, a sua demanda deve ser suprida. Assim, produtores tem adotado a aplicação foliar de Ca como complemento à adubação do solo a fim de prevenir o aparecimento de sintomas de queima dos bordos.

A aplicação foliar de Ca é indicada como adubação complementar e é uma alternativa utilizada em culturas agrônômica e economicamente importantes (FERNANDÉZ, 2013). Diversas formulações de fontes de Ca para aplicação foliar estão disponíveis no mercado, dentre elas cloreto de Ca, óxido de Ca, Ca quelatizado por aminoácidos, carbonato de Ca micronizado, nitrato de Ca e acetato de Ca. Cada formulação possui particularidades e desencadeiam diferentes respostas nas culturas.

A adubação via foliar pode reduzir a ocorrência do distúrbio fisiológico em espécies de ciclo curto, melhorando a resistência mecânica das folhas, resultado do aumento da pectina insolúvel em água e teor de celulose, hemicelulose e lignina (SIQUEIRA *et al.*, 2006). Porém, em espécies de ciclo longo nem sempre é eficaz, como Rosen *et al.*, (2006) encontraram em um trabalho com maçã.

A aplicação foliar de Ca resulta em aumento na massa fresca em alface de cultivo hidropônico (BENINNI *et al.*, 2003), aumento da concentração do cálcio nas folhas de pessegueiro (BRUNETTO *et al.*, 2008) e nos escapos florais de peônias (LI *et al.*, 2012). Resulta em paredes celulares e lamelas médias melhores estruturadas (NATALE *et al.*, 2005; EVANGELISTA *et al.*, 2006); com manutenção de material intercelular na lamela média e com menor dissolução da parede celular após o armazenamento (EVANGELISTA *et al.*, 2006).

Controversamente, a aplicação foliar de Ca não incrementa teor desse nutriente em frutos de manga e pêssago (SAMPAIO *et al.*, 1999; BRUNETTO *et al.*, 2008) e em alface (KANO *et al.*, 2012), não desencadeando

efeito significativo sobre a produção de pêssego (BRUNETTO *et al.*, 2008) e nem na biomassa, massa seca, número de folhas e área foliar de alface (CORRIVEAU *et al.*, 2012).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar as modificações morfoanatômicas ocasionadas pela aplicação foliar de três fontes de Ca e a eficiência de ambos no controle da queima dos bordos em alface.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENINNI, E. R. Y.; TAKAHASHI, H. W.; NEVES, C. S. V. J. Manejo do cálcio em alface de cultivo hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n.4, p. 605-610, 2003.
- BRUNETTO, G.; MELO, G. W.; KAMINSKI, J. Aplicação foliar de cálcio em pessegueiro na Serra Gaúcha: avaliação do teor de nutrientes na folha, no fruto e produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.30, n.2, p. 528-533, 2008.
- CORRIVEAU, J.; GAUDREAU, L.; CARON, J.; JENNI, S.; GOSSELIN, A. Testing irrigation, day/night foliar spraying, foliar calcium and growth inhibitor possible as cultural practices to reduce tipburn in lettuce. **Jornal of Plant Science**. v. 92, p. 889–899, 2012.
- EVANGELISTA, R. M., CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Mudanças na ultra-estrutura da parede celular de mangas 'Tommy Atkins' tratadas com cloreto de cálcio na pré-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, no.1, p.254-257. 2006.
- FELLE, H. Auxin causes oscillations of cytosolic calcium and pH in Zea mays coleoptiles. **Planta**, v.174, p. 495-499. 1988.
- FERNÁNDEZ, V., SOTIRTOPOULOS, T., BROWN, P. **Foliar fertilization, Scientific Principles and Field Practice**. International Fertilizer Industry Association (IFA), Paris, France. 144p. 2013.
- HEPLER, P. K. Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. **The Plant Cell**, Rockville, v.17, p.2142-2155. 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Agropecuário de 2006. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em 14 de março de 2015.
- KANO, C.; FERNANDES JÚNIOR, F.; DONADELLI, A.; AZEVEDO FILHO, J. A. Fontes de cálcio na produção de alface sob cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 3429-3432, 2012.
- LI, C.; TAO, J.; ZHAO, D.; YOU, C.; GE, J. Effect of calcium sprays on mechanical strength and cell wall fractions of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* pall.)

inflorescence stems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 4704-4713, 2012.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press, London. 889p. 1995.

NATALE, W.; PRADO, R. M.; MORO, F. V. Alterações anatômicas induzidas pelo cálcio na parede celular de frutos de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol.40, n.12, p. 1239-1242, 2005.

OLLE, M., BENDER, I. Causes and control of calcium deficiency disorders in vegetables: a review. **J Hort Sci Biotech**, v. 84 (6), p. 577-584. 2009.

ROSEN, C. J.; BIERMAN, P. M.; TELIAS, A.; HOOVER, E. E. Foliar- and fruit-applied strontium as a tracer for calcium transport in apple trees. **HortScience**, v. 41, p. 220–224, 2006.

SAMPAIO, V. R; SCARPARE FILHO, J. A.; KLUGE, R. A. Distúrbios fisiológicos da manga: efeito da aplicação de Ca em pulverização foliar. **Science agricola**, vol.56, n.2, p. 459-463, 1999.

SIQUEIRA, C. H.; BARBOSA, M. S.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R. Efeito da aplicação foliar de cálcio e tetracloreto de titânio sobre a ocorrência de “Tip burn” em plantas de alface. **Bioscience Journal**, v. 22, p. 17-23, 2006.

TUTEJA, N.; MAHAJAN, S. Calcium signaling network in plants: an overview. **Plant Signal Beha**, v. 2, p. 79–85, 2007.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, v.92, n.4, p.487-511, 2003.

2 CAPÍTULO I – ACÚMULO DE BIOMASSA E ALTERAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE Ca EM FOLHAS DE ALFACE SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE CÁLCIO

RESUMO

A deficiência de cálcio (Ca) em plantas afeta o crescimento e desencadeia sintomas nas folhas novas pela desestruturação de células. A aplicação foliar de Ca é indicada, pois disponibiliza o nutriente diretamente para o órgão de interesse durante estágios críticos de crescimento. A literatura é controversa sobre a eficiência da aplicação de Ca via foliar, pois depende da fonte utilizada, da dose aplicada e da cultura de interesse. O objetivo do trabalho foi avaliar se a aplicação foliar de Ca interfere no acúmulo de biomassa e concentração de Ca na folha. Os tratamentos foram compostos por um fatorial com aplicação foliar de três fontes de cálcio em quatro doses e o controle. A maioria das fontes e doses aumentou o número de folhas e três tratamentos aumentaram a biomassa da parte aérea. Observou-se um acúmulo de Ca na parede das células de alguns tratamentos pela espectroscopia de energia dispersiva de raio-X e teste histoquímico com vermelho de rutênio. As fontes apresentaram diferenças significativas, sendo que o CaCl_2 mostrou melhor eficiência comparado às fontes de CaO e quelato-Ca. A pulverização aumentou a concentração de Ca na folha e o acúmulo de biomassa pela deposição de Ca na parede celular em forma de pectato de Ca. Portanto, a pulverização de Ca proporciona a biofortificação de Ca em alface e pode diminuir perdas no pós-colheita e maior tempo para comercialização do produto.

Palavras-chave: adubação foliar, cloreto de cálcio, óxido de cálcio, quelato de cálcio

ACCUMULATION OF BIOMASS AND CHANGE IN CONCENTRATION OF Ca IN LETTUCE LEAVES UNDER THE FOLIAR CALCIUM APPLICATION

ABSTRACT

Calcium (Ca) deficiency in plants affects the growth of young leaves and triggers symptoms associated with cell disruption. The foliar application of Ca is recommended because it provides the nutrient directly to the organ of interest during critical growth stages. The literature on the efficiency of foliar Ca application is controversial because such efficiency depends on the Ca source, applied dose and investigated culture. The present study aimed to assess whether foliar Ca application interferes with biomass accumulation and Ca concentration in the leaf. The treatments consisted of a factorial design and the foliar application of three Ca sources in four doses as well as a control group. Most of the sources and dosages increased the number of leaves, and three treatments increased the shoot biomass. Ca accumulation in the cell walls of certain treatments was observed using energy dispersive X-ray spectroscopy and histochemical tests with ruthenium red. The Ca sources showed significant differences, with CaCl_2 showing better efficiency compared with CaO and Ca chelate. Spraying increased the Ca concentration in the leaves and accumulation of biomass because of Ca deposition in the cell wall as Ca pectate. Therefore, Ca spraying can provide biofortification of Ca in lettuce, decrease post-harvest losses and increase the time available for marketing the product.

Keywords: foliar fertilization, calcium chloride, calcium oxide, calcium chelate

2.1 INTRODUÇÃO

O cálcio (Ca) é um macronutriente indispensável para o crescimento das plantas. Possui diversas funções dentro da célula vegetal e são definidas pela sua concentração e localização, podendo estar na parede celular como constituinte estrutural, no citosol como mensageiro secundário e no vacúolo como contra-íon (HEPLER, 2005; HEPLER e WINSHIP, 2010; WHITE e BROADLEY, 2003).

O Ca está envolvido na fotossíntese, aumento do volume e divisão celular, movimentos citoplasmáticos, funções do citoesqueleto e estabilização da membrana plasmática (HEPLER, 2005). Além disso, é um importante mensageiro intracelular que atua no sistema de defesa da planta, pois induz a síntese de proteínas específicas e genes reguladores de estresse (HEPLER, 2005; WHITE e BROADLEY, 2003).

A absorção do Ca ocorre pelas raízes em forma de cátion divalente e a distribuição é pelo xilema, porém a translocação via floema é baixa e o seu transporte depende da transpiração (MARSCHNER, 1995). O Ca encontra-se em maior concentração na parede celular, sendo um importante constituinte celular, principalmente na lamela média onde se apresenta associado à pectina em forma de pectato de cálcio (HEPLER E WINSHIP, 2010). A ausência de Ca na nutrição da planta é principalmente observada nas folhas novas, devido à baixa taxa transpiratória nesses locais, ocasionando desestruturação de células de tecidos jovens. (WHITE e BROADLEY, 2003).

A aplicação foliar é indicada para minimizar os problemas com deficiência de Ca em espécies de ciclo curto. A aplicação foliar disponibiliza diretamente o nutriente para a planta durante os estágios críticos de crescimento, obtendo resposta em curto tempo quando a demanda da planta for alta ou a disponibilidade do nutriente for limitada pelas condições do solo (FAGERIA *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ *et al.*, 2013).

Portanto, o objetivo foi avaliar se a aplicação foliar de Ca interfere no acúmulo de biomassa e concentração de Ca na parte aérea de alface.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Condições de crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Verônica foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido em abril de 2013. Duas mudas foram transplantadas 30 dias após a emergência das sementes para vasos de 2L, preenchidos com o substrato Plantmax®. O substrato apresentou as seguintes características: matéria seca = 73,35 g kg⁻¹; N = 0,35 g kg⁻¹; P₂O₅ = 0,57 g kg⁻¹; K₂O = 0,22 g kg⁻¹; MgO = 2,76 g kg⁻¹; CaO = 1,66 g kg⁻¹. A irrigação foi realizada para que a capacidade de campo permanecesse em aproximadamente 80%.

2.2.2 Desenho experimental

O experimento consistiu em um fatorial com tratamento adicional (3 fontes de cálcio x 4 doses + 1 controle com aplicação de água). O experimento foi distribuído em arranjo inteiramente casualizado, contendo quatro repetições.

2.2.3 Aplicações foliares de Ca

As aplicações foliares iniciaram 15 dias após o transplante (DAT) e foram realizadas semanalmente no período entre 09 e 10h. Para as aplicações foi utilizado um pulverizador manual com vazão de 15,5 mL por planta.

As fontes de Ca consistiram em cloreto de cálcio (CaCl₂), óxido de cálcio (CaO) e quelato de cálcio (quelato-Ca). O CaCl₂ possui em sua formulação 140 g L⁻¹ de cálcio (Ca). O CaO possui 40 g L⁻¹ de Ca, 0,3 g L⁻¹ de boro (B), 3,1 g L⁻¹ de zinco (Zn) e 6,9 g L⁻¹ de nitrogênio (N). O fertilizante mineral misto de quelato-Ca contém Ca e B nas concentrações respectivas de 62 e 6,2 g L⁻¹. As três fontes de Ca foram aplicadas em quatro doses, sendo 0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 L ha⁻¹ do produto comercial, equivalendo a 1,25, 2,50, 5,00 e 10 mL do produto por litro de água. Sendo assim, a concentração de Ca para CaCl₂ foi 0,175, 0,350, 0,700 e 1,400 g por litro de solução, para CaO 0,05, 0,10, 0,20 e 0,40 e para quelato-Ca 0,08, 0,15, 0,31 e 0,62.

2.2.4 Análises das plantas

Aos 62 DAT, amostras do ápice da folha totalmente expandidas do terço médio das plantas, próximas à nervura central de cada planta, foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) para análises do tecido foliar.

Para microscopia de luz as amostras fixadas foram incluídas em glicol-metacrilato (Leica Historresin®, Leica Microsystem, Alemanha), seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo (Olympus CUT 4055, Triangle Biomedical Sciences, Japão). Posteriormente, foram coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1965) para medição da espessura foliar e realizado teste histoquímico com vermelho de rutênio para detecção de substâncias pécticas (JOHANSEN, 1940). Para quantificação de elementos químicos, duas amostras fixadas de cada tratamento foram desidratadas em série etanólica, secas em ponto crítico com CO₂ e examinadas em espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS) com microscópio eletrônico de varredura (TSM-6360 LV, Jeol, Japão).

Para análises morfológicas coletou-se a parte aérea. O número de folhas foi mensurado e as plantas foram colocadas em estufa, com circulação de ar a 65°C, até atingir peso constante para determinar a biomassa da parte aérea.

2.2.5 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à transformação em raiz quadrada, teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e análise de variância. Os tratamentos foram comparados ao controle pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade. Para comparação entre os tratamentos realizou-se teste de Tukey (0,05). O modelo linear escolhido foi análise de variância, pois com quatro doses a adequação da equação dos polinômios poderia ser tendenciosa.

2.3 RESULTADOS

Os tratamentos apresentaram diferenças significativas para número de folhas, biomassa e espessura da lâmina foliar quando comparados ao controle

pelo teste de Dunnett (0,05) (Tabela 01). As aplicações foliares de Ca resultaram em número de folhas superiores ao controle, com exceção do tratamento com 0,5 L ha⁻¹ de quelato-Ca. Além disso, houve maior acúmulo de biomassa nos tratamentos com 1,0 e 2,0 L ha⁻¹ de CaCl₂ e 4,0 de CaO, e aumento na espessura da folha no tratamento com 0,5 L ha⁻¹ de CaO (Tabela 02).

A análise de variância realizada entre os produtos e doses mostrou que houve interação entre ambos para número de folhas e biomassa. Para a espessura da lâmina foliar não houve diferença significativa para as fontes de Ca, doses e interação entre ambos (Tabela 01).

Para o número de folhas, a fonte de CaCl₂ foi superior nas doses de 1,0 e 2,0 L ha⁻¹, o CaO não apresentou diferenças e o quelato-Ca foi superior nas doses 1,0, 2,0 e 4,0 L ha⁻¹ (Tabela 02).

Para produção de biomassa, o CaCl₂ foi superior nas doses 0,5, 1,0 e 2,0 L ha⁻¹. A dose 4,0 L ha⁻¹ de CaCl₂ resultou em menor acúmulo de biomassa. Para o CaO, as doses de 1,0 e 4,0 foram iguais, porém o maior valor foi observado na maior dose testada. O quelato-Ca foi superior nas doses 0,5, 1,0 e 2,0 L ha⁻¹, os quais não diferiram entre si.

A fonte de CaCl₂ apresentou aumento na concentração de Ca no tecido foliar (mg Ca g⁻¹ massa seca) até a dose 2,0 L ha⁻¹, ocorrendo uma queda na dose 4,0 L ha⁻¹. A aplicação de CaO e quelato-Ca resultou em aumento gradativo na concentração de Ca nas células do mesofilo conforme o aumento da dose aplicada do produto (Figura 01).

O teste com vermelho de rutênio, em microscopia de luz, mostrou que houve reação mais intensa para a presença de substâncias pécticas nos tratamentos com aplicação de Ca em relação ao controle (Figura 01).

2.4 DISCUSSÃO

A aplicação foliar de Ca mostrou-se eficiente na melhoria do desenvolvimento das plantas, pois proporcionou maior acúmulo de biomassa, número de folhas e concentração de Ca no tecido foliar.

Para que haja absorção eficiente das soluções aplicadas via foliar é desejável que a folha possua cutícula fina e estômatos abertos, para que em poucas horas o nutriente seja absorvido (FAGERIA *et al.*, 2009). As fontes de Ca aplicadas foram absorvidas, pois a alface possui folha com cutícula fina e estômatos em ambas as faces, o que facilitou a penetração dos produtos e absorção para o interior das células, assim como Weryszko-chmielewska e Michałojć (2009) observaram em pimenta-doce.

O controle apresentou número de folhas inferior aos tratamentos que receberam aplicação foliar de Ca. A pulverização proporcionou aumento na taxa de divisão celular e resultou em maior número de folhas, assim como Dordas (2009) observou que a aplicação de Ca foliar em orégano atingiu o meristema e favoreceu o crescimento com o aumento no número de hastes por planta. A aplicação foliar do Ca interferiu no processo mitótico pela elevação da concentração de Ca no interior das células, pois o Ca regula a taxa de movimento dos cromossomos durante a anáfase, estimulando a despolimerização dos microtúbulos e atuando diretamente na divisão celular (ZHANG, 1992).

A aplicação foliar de Ca proporcionou maior acúmulo de biomassa em três tratamentos (Tabela 02). O Ca absorvido pela planta elevou a sua concentração no citosol e foi acumulado na parede celular como pectato de Ca, ocasionando o aumento na biomassa. O Ca está em maior concentração na lamela média e está associado à rigidez estrutural da parede celular, pois durante a formação da parede celular, resíduos de ácidos são secretados como ésteres metílicos e desesterificados pela pectina metilesterase, liberando grupo carboxílico o qual se liga ao Ca e forma o pectato de Ca (HEPLER, 2005). O aumento da biomassa pelo acúmulo do Ca na parede celular se torna evidente, pois a espessura da folha não se altera com a aplicação de Ca, inviabilizando a possibilidade de expansão das células, e porque os tratamentos que apresentaram maiores concentrações de Ca no tecido foliar são os com maiores acúmulos de biomassa (Figura 01 e 02).

Os tratamentos que foram superiores na produção de número de folhas não responderam da mesma forma para acúmulo de biomassa. As plantas direcionaram o Ca absorvido para a divisão celular e para a síntese de parede celular de novas células, e somente nos tratamentos 1,0 e 2,0 L ha⁻¹ de CaCl₂ e

4,0 de CaO as plantas conseguiram acumular Ca significativamente na lamela média (Figura 01 e 02).

Comparando as fontes de Ca aplicadas, elas proporcionaram resultados distintos em relação ao desenvolvimento das plantas de alface. Isto se deve à eficiência de cada produto, a qual está ligada às propriedades químicas do íon pulverizado, como a formulação, concentração, pH e surfactantes presentes, os quais interferem diretamente na taxa de absorção do nutriente (WÓJCIK, 2004; FERNANDÉZ, *et al*, 2013).

A aplicação da fonte de CaCl_2 atingiu máxima produção de biomassa na dose de $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ (Tabela 02). Doses superiores podem ser prejudiciais à planta, pois pode ocasionar efeito negativo nas plantas pela salinidade causada pelo excesso de íon cloreto (Cl^-) (RUIZ e ROMERO, 2001). O excesso de Cl^- provoca estresse e desbalanceamento dos íons, resultando em taxa de crescimento reduzida e folhas pequenas (BERNSTEIN, 1975).

A fonte de CaO mostrou-se variável, atingindo maior acúmulo de biomassa na dose $4,0 \text{ L ha}^{-1}$. O produto utilizado possui boro em sua formulação, responsável pela estruturação da parede celular pela ligação a polissacarídeos pécticos (KOSHIBA *et al.*, 2009); o zinco, importante para o metabolismo geral da planta, incluindo síntese de proteínas, manutenção da integridade da membrana plasmática e regulação da auxina (HAFEEZ *et al.*, 2013); e nitrogênio, componente essencial das proteínas (MOKHELE *et al.*, 2012). Portanto, o conjunto de nutrientes fornecidos à planta propiciou bom desenvolvimento na maior dose testada.

O quelato-Ca na dose $1,0 \text{ L ha}^{-1}$ apresentou máxima eficiência e o aumento da dose aplicada não resultou em aumento da biomassa. Quando o produto é aplicado ocorre um gradiente de absorção por difusão de Ca até atingir um ponto máximo (FERNANDÉZ, *et al*, 2013), pois a concentração de Ca na superfície da folha é maior do que no mesofilo. Os sítios de captação para absorção foram saturados e não houve aumento na taxa de penetração com o aumento da dose do produto. Stacey e Oosterhuis (2007) concluíram que fertilizantes de Fe e Zn em forma de quelatos não são indicados para aplicações foliares, pois possuem baixa taxa de absorção, mostrando que outra formulação de fertilizante do mesmo nutriente é absorvida mais rapidamente pela planta.

A aplicação foliar de Ca teve efeito direto sobre a concentração do mineral no tecido (Figura 01), assim como encontrado por Lopez-Lefebre *et al.* (2001), Singh *et al.* (2007) e Dordas (2009). Todos os tratamentos apresentaram concentração de Ca dentro da faixa indicada para crescimento normal da alface, variando entre 0,1 e 5,0 mg g⁻¹ de massa seca (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC, 2004). Sendo assim, a pulverização de Ca proporciona a biofortificação de alimentos de origem vegetal pelo aumento da concentração de Ca nas folhas

Além de atuar nos processos fisiológicos, o Ca absorvido foi acumulado em forma de pectato de Ca, que atua como agente estabilizador da parede célula, inibindo a ação de enzimas que degradam a parede e desintegram a célula (MARSCHNER, 1995; GLENN e POOVAIAH, 1990). Portanto, a pulverização de Ca pode proporcionar aumento da concentração de Ca na parede celular e maior resistência mecânica à planta (CHÉOUR *et al.*, 1990; SINGH, *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2012), pois aumentam teor de pectina total (LI *et al.*, 2012) e retardam a sua solubilização (GLENN e POOVAIAH, 1990). Além disso, pode resultar em um produto com menor taxa de degradação e perda no pós-colheita, e, maior durabilidade e tempo de comercialização.

2.5 CONCLUSÃO

A aplicação foliar de Ca é eficiente considerando a fonte e a dose a serem utilizadas. Conclui-se que a fonte recomendada pela eficiência para as plantas de alface é a de CaCl₂, desde que utilizada nas doses indicadas de 1,0 e 2,0 L ha⁻¹. As fontes com CaO e quelato-Ca são produtos que possuem moléculas complexas e patenteadas por empresas, tendo alto custo para o produtor e não apresentando diferenças significativas em relação à fonte de CaCl₂.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro e ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernstein, L. (1975): Effects of salinity and sodicity on plant growth. *Annu. Rev. Phytopathol.* 13, 295-312.

Chéour, F., Willemot, C., Arul, J., Desjardins, Y., Makhlouf, J., Charest, P. M., Gosselin, A. (1990): Foliar application of calcium chloride delays postharvest ripening of strawberry. *J Am Soc Hortic Sci.* 115, 789-792.

Comissão De Química E Fertilidade Do Solo - RS/SC. (2004): Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10 ed. Porto Alegre, Brasil. 400p.

Dordas, C. (2009): Foliar application of calcium and magnesium improves growth yield and essential oil yield of oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Ind. Crops Prod.* 29, 599-608.

Fageria, N. K.; Filho, M. P. B.; Moreirab, A.; Guimaraes, C. M. (2009): Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.*, 32 (6), 1044 –1064.

Fernández, V., Sotirtopoulos, T., Brown, P. (2013): Foliar fertilization, Scientific Principles and Field Practice. International Fertilizer Industry Association (IFA), Paris, France. 144p.

Frantz, J. M., Ritchie, G., Cometti, N. N., Robinson, J., Bugbee, B. (2004): Exploring the limits of crop productivity: beyond the limits of tipburn in lettuce. *J Am Soc Hortic Sci.* 129, 331-338.

Glenn, G. M.; Poovaiah, B.W. (1990): Calcium mediated postharvest changes in texture and cell wall structure and composition in 'Golden Delicious' apples. *J Am Soc Hortic Sci.* 115 (6), 962-968.

Hafeez, B., Khanif, Y. M., Saleem, M. (2013): Role of Zinc in Plant Nutrition- A Review. *American journal of Experimental Agriculture.* 50(1), 374-391.

Hepler, P. K. (2005): Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. *Plant Cell.* 17, 2142-2155.

Hepler, P. K., Winship, J. L. (2010): Calcium at the Cell Wall-Cytoplasm Interface. *J Integr Plant Biol.* 52, 147-160.

Johansen, D. A. (1940): Plant microtechnique. Mc Graw Hill, New York. United States. 530p.

Karnovsky, M. J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27, 137-138.

Koshiba, T., Kobayashi, M., Matoh, T. (2009): Boron deficiency: How does the defect in cell wall damage the cells? *Plant Signal Behav.* 4:6, 557-558.

Li, C., Tao, J., Zhao, D., You, C., Ge, J. (2012): Effect of calcium sprays on mechanical strength and cell wall fractions of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* pall.) inflorescence stems. *Int J Mol Sci.* 13, 4704-4713.

Lopez-lefebre, L. R., Rivero, R. M., Garcia, P. C., Sanchez, E., Ruiz, J. M., Romero, L. (2001): Effect of calcium on mineral nutrient uptake and growth of tobacco. *J. Sci. Food Agr.* 81, 1334-1338.

Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. 889p.

Mokhele, B.; Zhan, X.; Yang, G.; Zhang, X. (2012): Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors. *Can. J. Plant Sci.* 92, 399-405.

O'brien, T. P.; Feder, N.; Mccully, M. E. (1965): Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma.* 59, 368-373.

Ruiz, J. M., Romero, L. (2001): Influence of CaCl₂ on the foliar biomass and quality of tobacco leaves. *J Agr Food.* 49, 3600-3605.

Singh, R., Sharma, R.R., Tyagi, S. K. (2007): Pre-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry. *Sci Hort.* 112, 215-220.

Stacey S. P., Oosterhuis, D. M. (2007): Effect of EDTA on the foliar absorption of trace element fertilizers. *Soil Fertility Studies.* 80–81.

Weryszko-Chmielewska, E.; Michałojć, Z. (2009): Anatomical features of leaves of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fed with calcium using foliar nutrition. *Acta Agrobot.* 62 (2), 155–164.

White, P. J., Broadley, M. R. (2003): Calcium in plants. *Ann Bot.* 92 (4), 487-511.

Wojcik, P. (2004): Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 12, 201-218.

Zhang, D.H., Wadsworth, P., And Hepler, P.K. (1992): Modulation of anaphase spindle microtubule structure in stamen hair cells of *Tradescantia* by calcium and related agents. *J. Cell Sci.* 102, 79–89.

Tabela 01: Análise de variância de número de folhas, biomassa (g) e espessura foliar (mm) de alface obtidos pelo fatorial com três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

Fator de Variação	Grau de Liberdade	p		
		Número de folhas	Biomassa (g)	Espessura foliar (mm)
Fontes de Ca (F)	2	<0,001	0,090	0,151
Doses (D)	3	0,004	0,017	0,075
F x D	6	0,002	0,007	>0,050
Fatorial x Controle	1	<0,001	0,004	0,027
Tratamentos	12	<0,001	<0,001	0,090
Coeficiente de variação		6,30	24,89	3,98

Tabela 02: Número de folhas, biomassa (g) e espessura foliar (mm) de alface resultantes da aplicação foliar com três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle submetidos ao teste de Tukey (0,05) e Dunnett (0,05).

Dose	Produto		
	CaCl ₂	CaO	Quelato-Ca
	Número de folhas		
0,5	12,67 a B ⁺	12,95 a A ⁺	8,58 b B
1,0	14,25 a AB ⁺	12,29 ab A ⁺	11,29 b A ⁺
2,0	16,25 a A ⁺	12,50 b A ⁺	12,50 b A ⁺
4,0	12,20 a B ⁺	12,50 a A ⁺	13,00 a A ⁺
Controle	8,00		
	Biomassa (g)		
0,5	3,09 a AB	2,36 a B	1,19 a B
1,0	4,59 a AB ⁺	2,87 a AB	2,34 a AB
2,0	5,63 a A ⁺	2,73 b B	3,55 ab AB
4,0	2,22 b B	5,43 a A ⁺	3,89 ab A
Controle	1,29		
	Espessura foliar (mm)		
0,5	183,69	211,76 ⁺	185,62
1,0	199,74	208,06	193,37
2,0	197,73	196,57	186,97
4,0	175,73	181,49	185,23
Controle	170,96		

Letras minúsculas comparam médias entre os produtos. Letras maiúsculas comparam médias entre as doses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (0,05);

⁺ Significativo e superior ao controle, pelo teste de Dunnett (0,05).

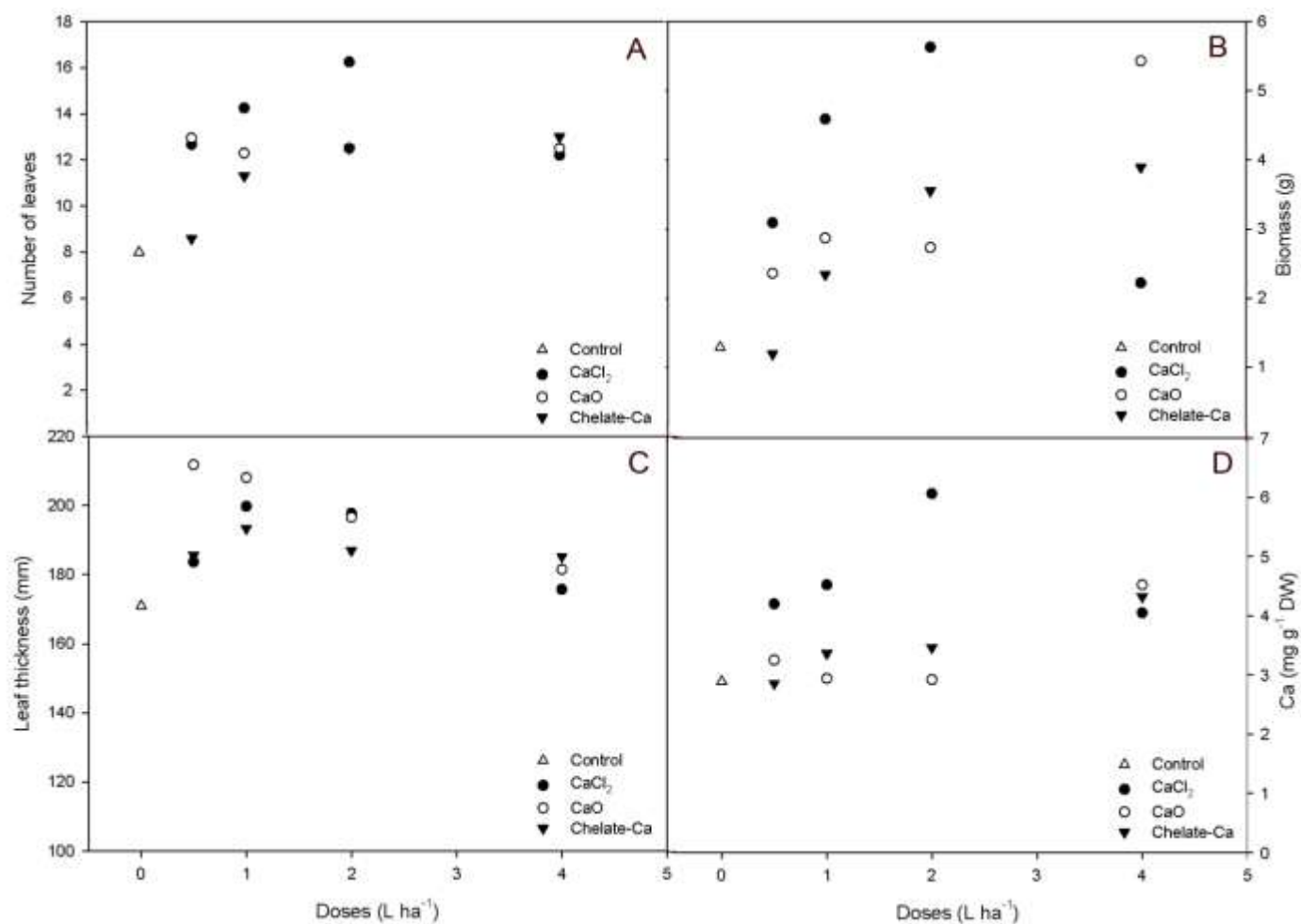


Figura 01: Número de folhas (A), biomassa (B), espessura foliar (C) e concentração de Ca na folha (D) em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

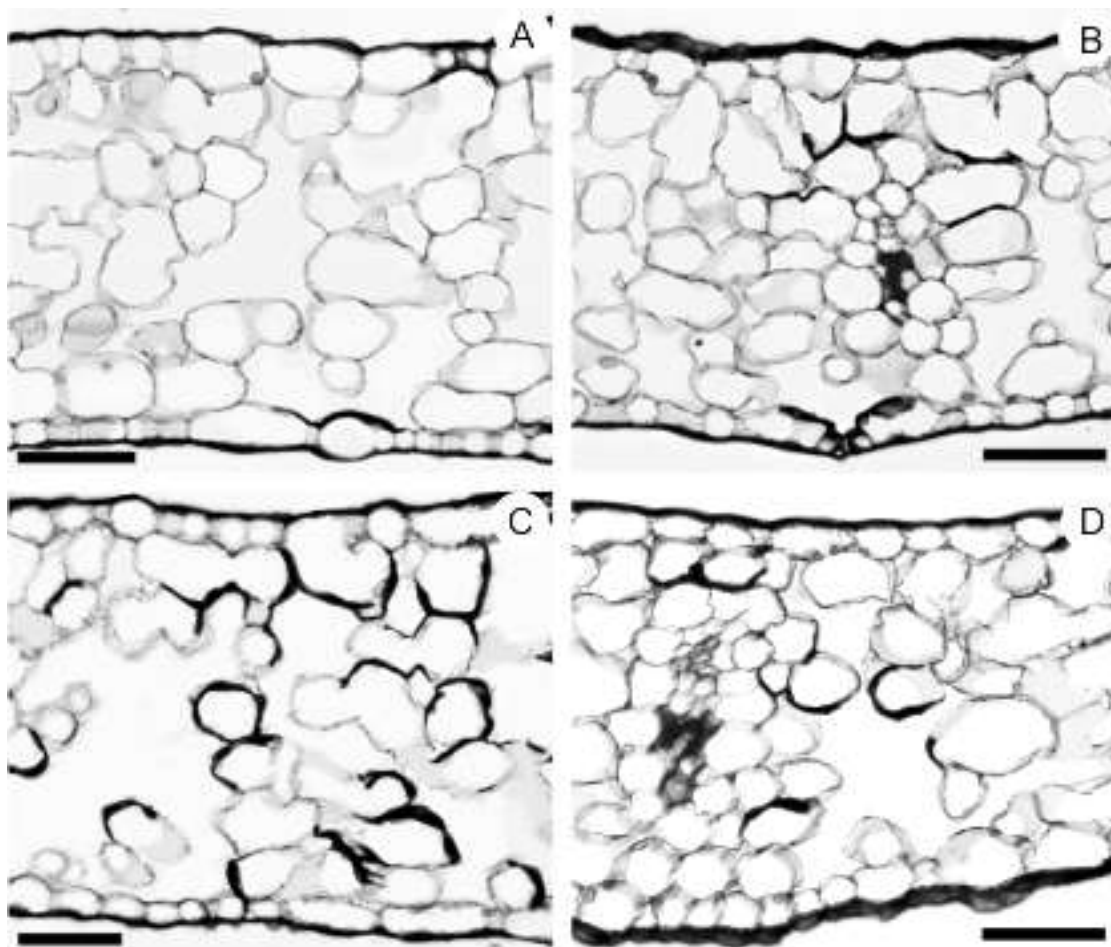
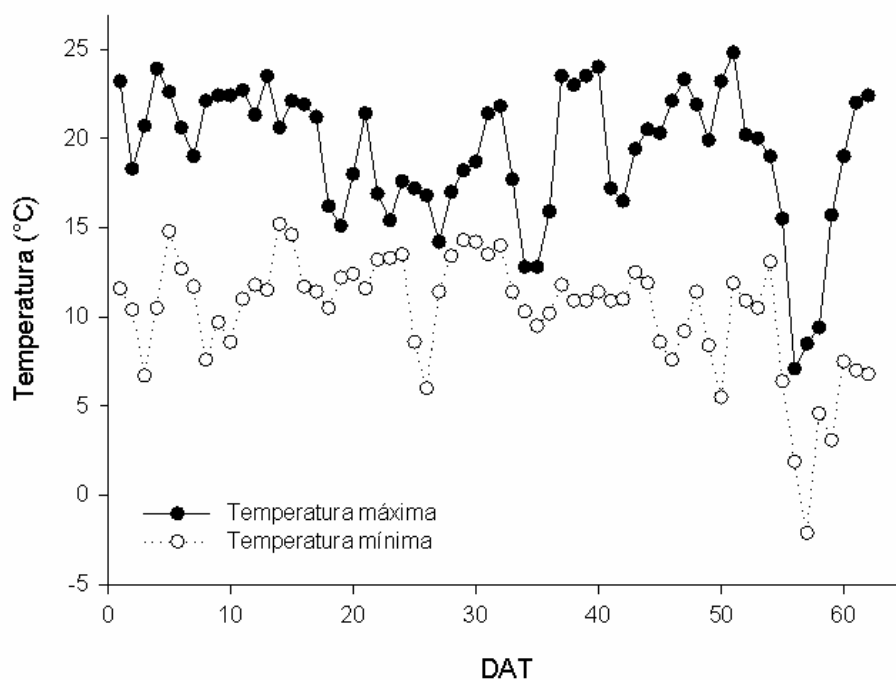
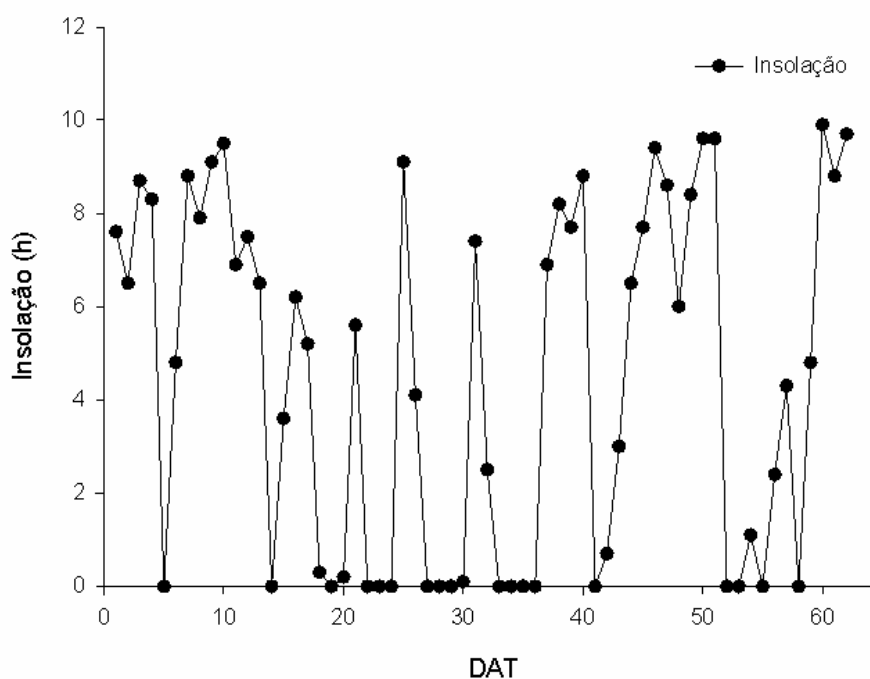


Figura 02: Sessões transversais do ápice da folha do 4º nó de alfaca testadas com vermelho de rutênio para detecção histoquímica de pectina nos tratamentos: controle (A), 1,0 L ha⁻¹ (B) e 2,0 L ha⁻¹ (C) de CaCl₂ e 4,0 L ha⁻¹ de CaO (D). 50 µm.

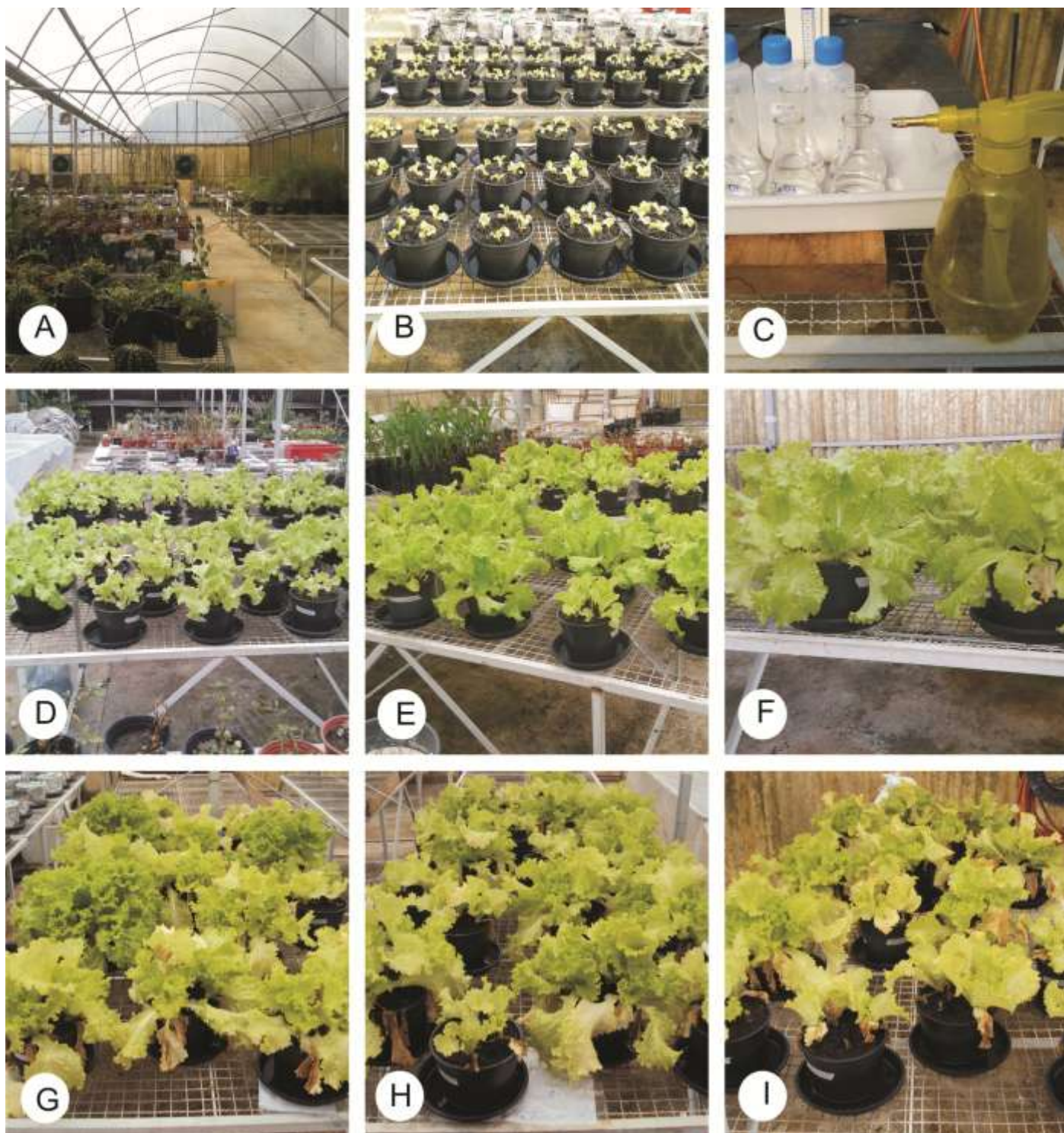
ANEXOS



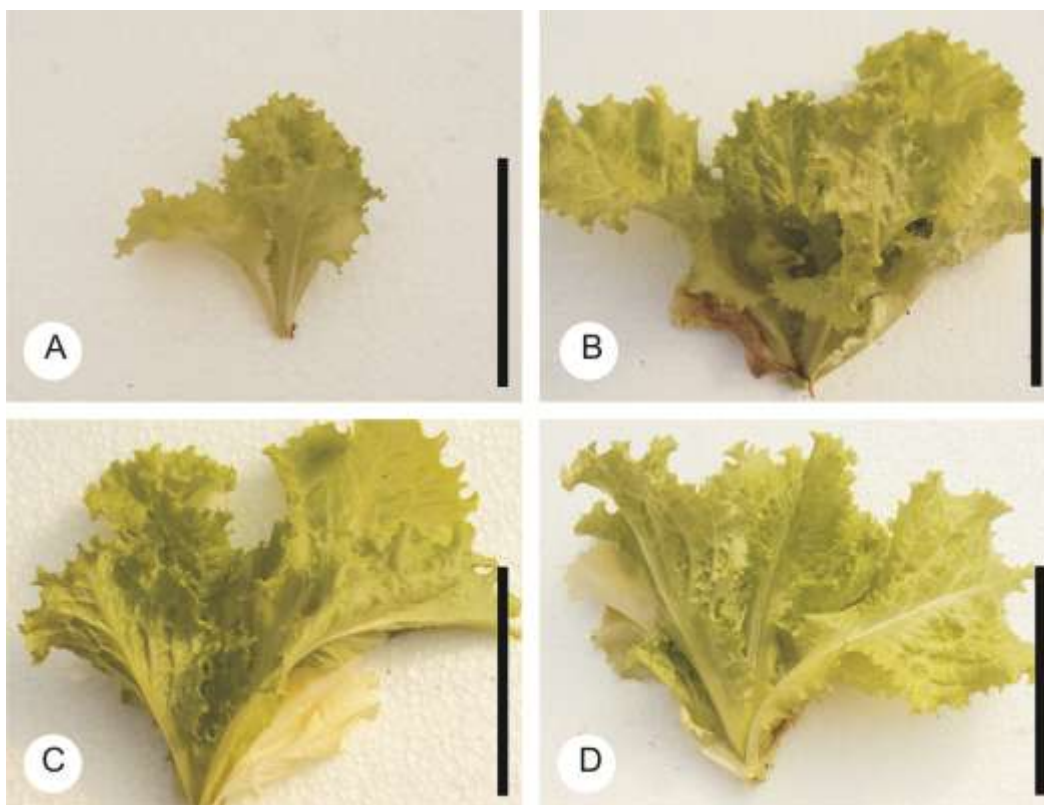
Anexo 01 – Temperatura máxima (°C) e temperatura mínima (°C) no período de 29 de maio a 30 de julho de 2013 (0 a 62 DAT). (Fonte: INMET, 2014)



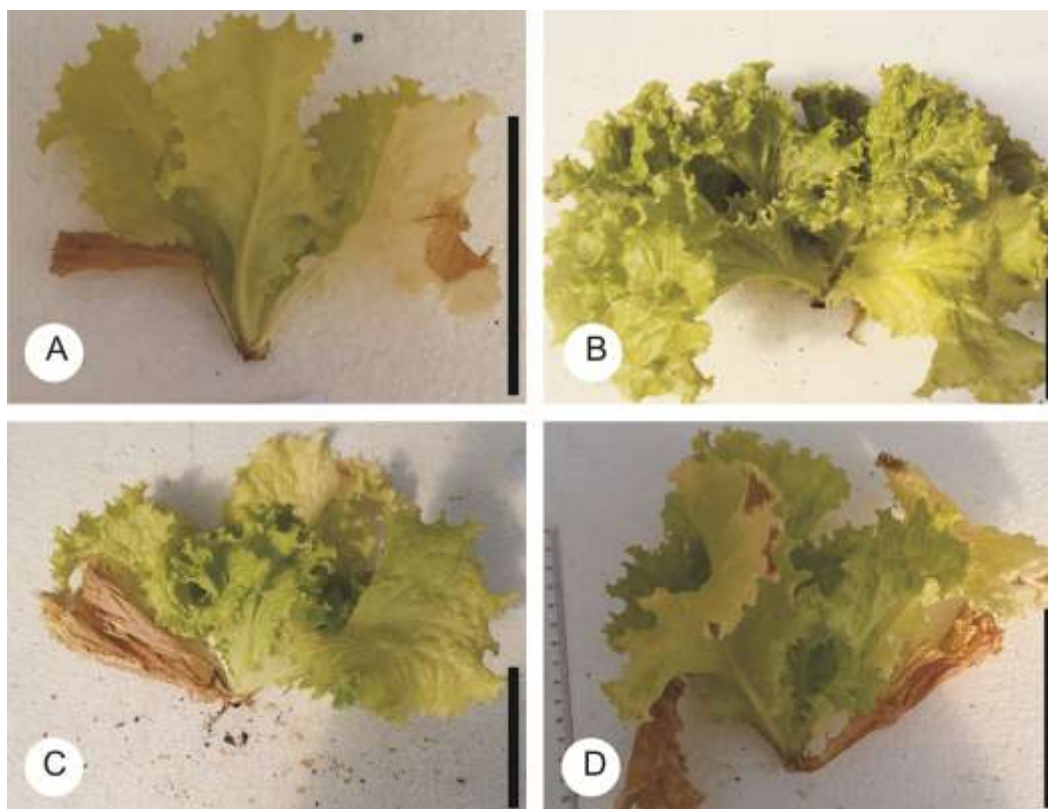
Anexo 02 – Insolação (horas) no período de 29 de maio a 30 de julho de 2013 (0 a 61 DAT). (Fonte: INMET, 2014)



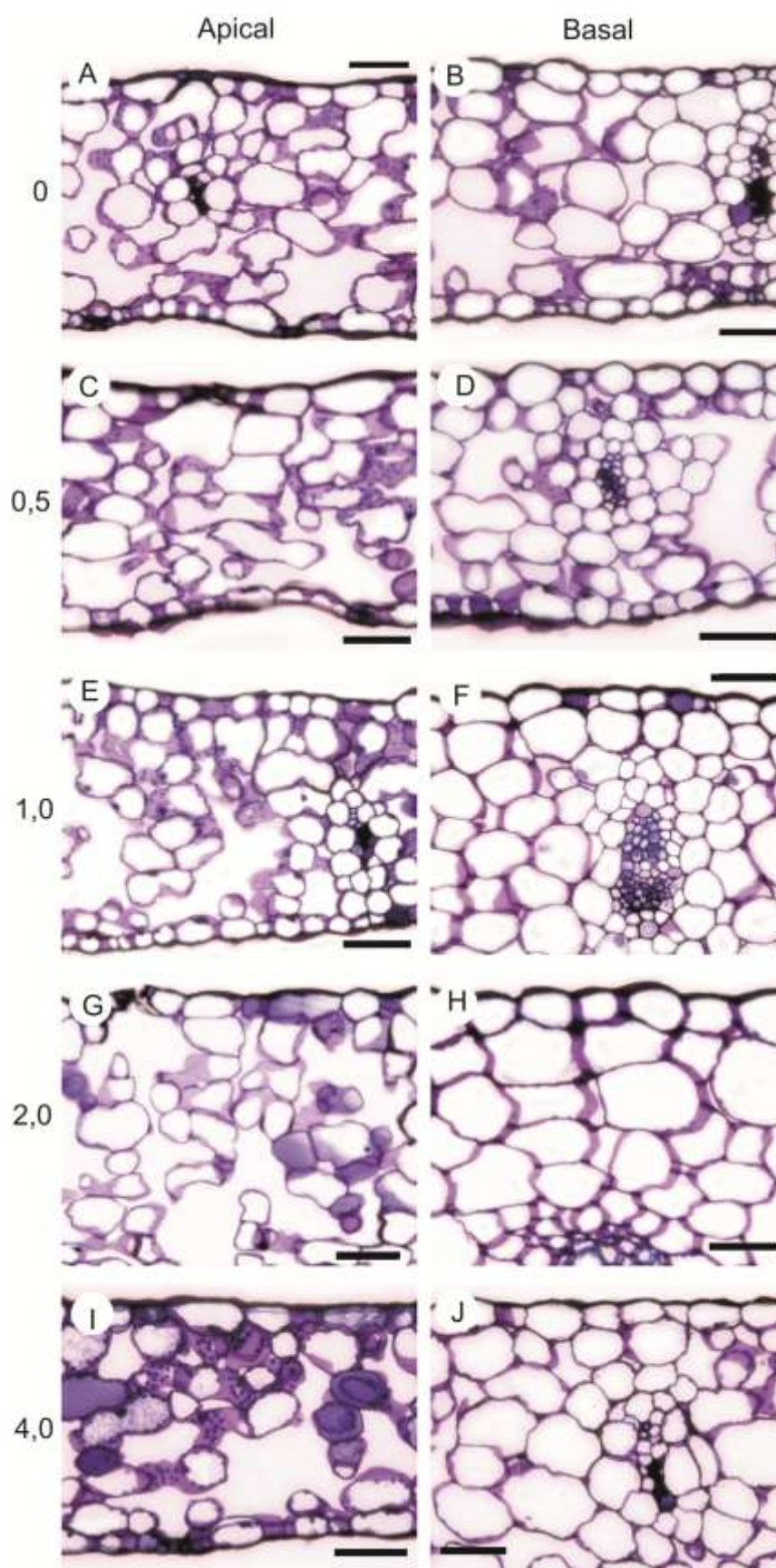
Anexo 03 – A - Visão geral da casa de vegetação em que foi implantado o experimento. B - Instalação do experimento em 29 de maio de 2013. C - Pulverizador manual para aplicação foliar. D - Plantas aos 20 DAT. E - Plantas aos 27 DAT. F - plantas aos 35 DAT. G, H, I - Plantas com 50 DAT.



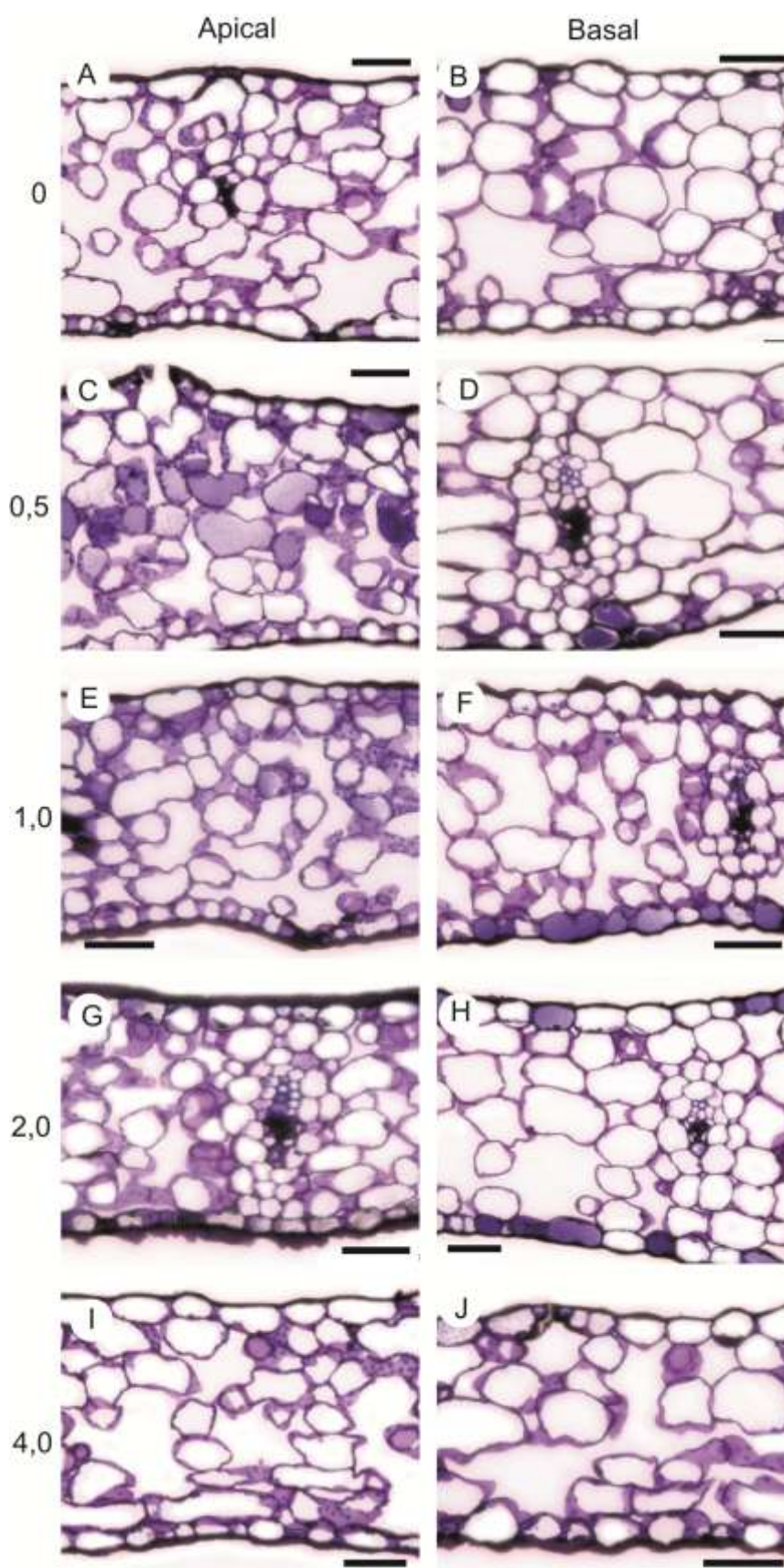
Anexo 04 – *L. sativa* L. pulverizadas com água (A) e 2,0 L.ha⁻¹ de CaCl₂ (B), de CaO (C) e quelato-Ca (D) coletadas 42 dias após o transplante em vasos. 10 cm.



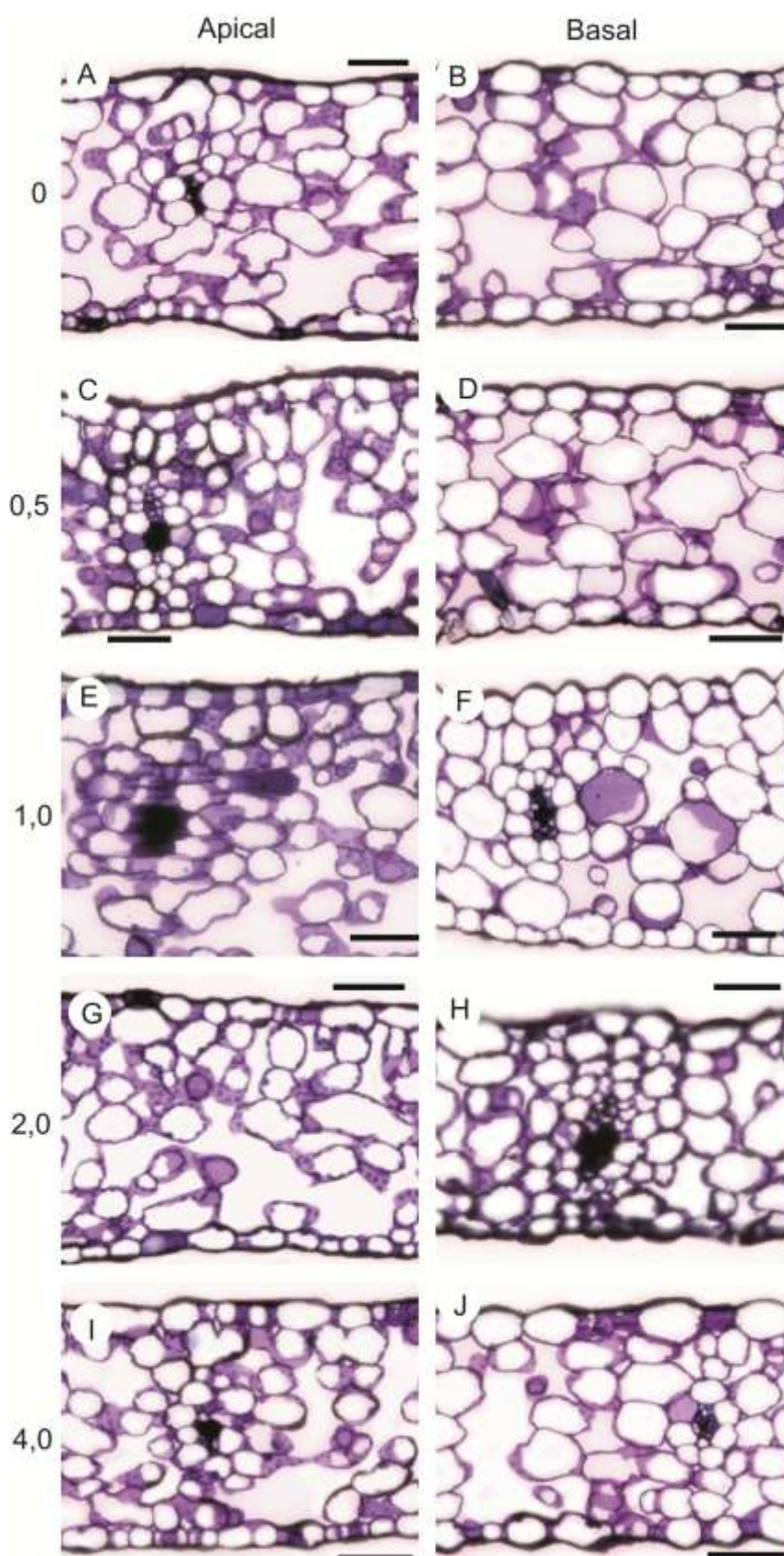
Anexo 05 – *L. sativa* L. pulverizadas com água (A) e 2,0 L.ha⁻¹ de CaCl₂ (B), de CaO (C) e quelato-Ca (D) coletadas 62 dias após o transplante em vasos. 10 cm.



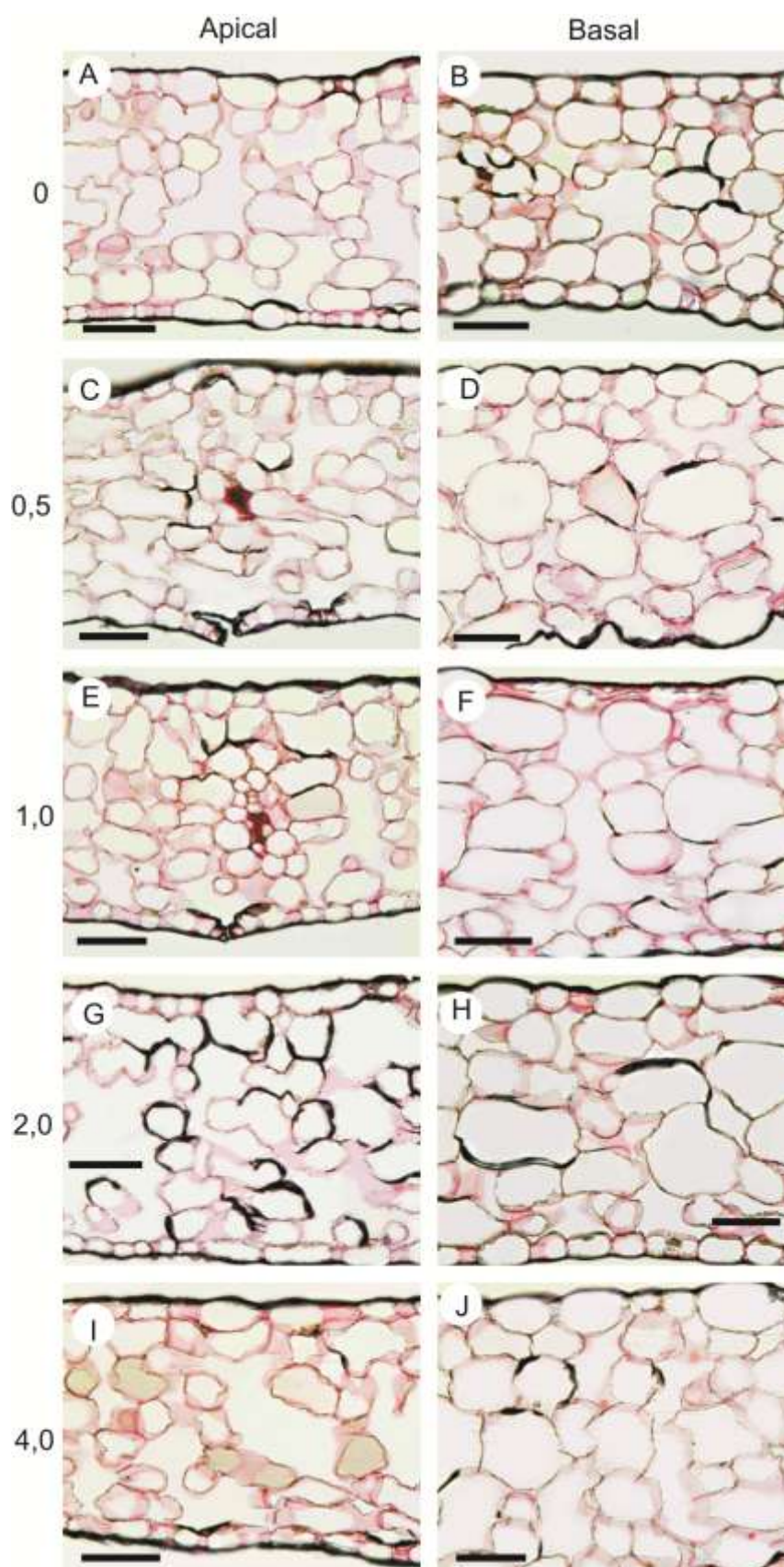
Anexo 06. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com azul de toluidina de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e CaCl_2 nas concentrações de: 0,5 L.ha^{-1} (C, D), 1,0 L.ha^{-1} (E, F), 2,0 L.ha^{-1} (G, H) e 4,0 L.ha^{-1} (I, J).



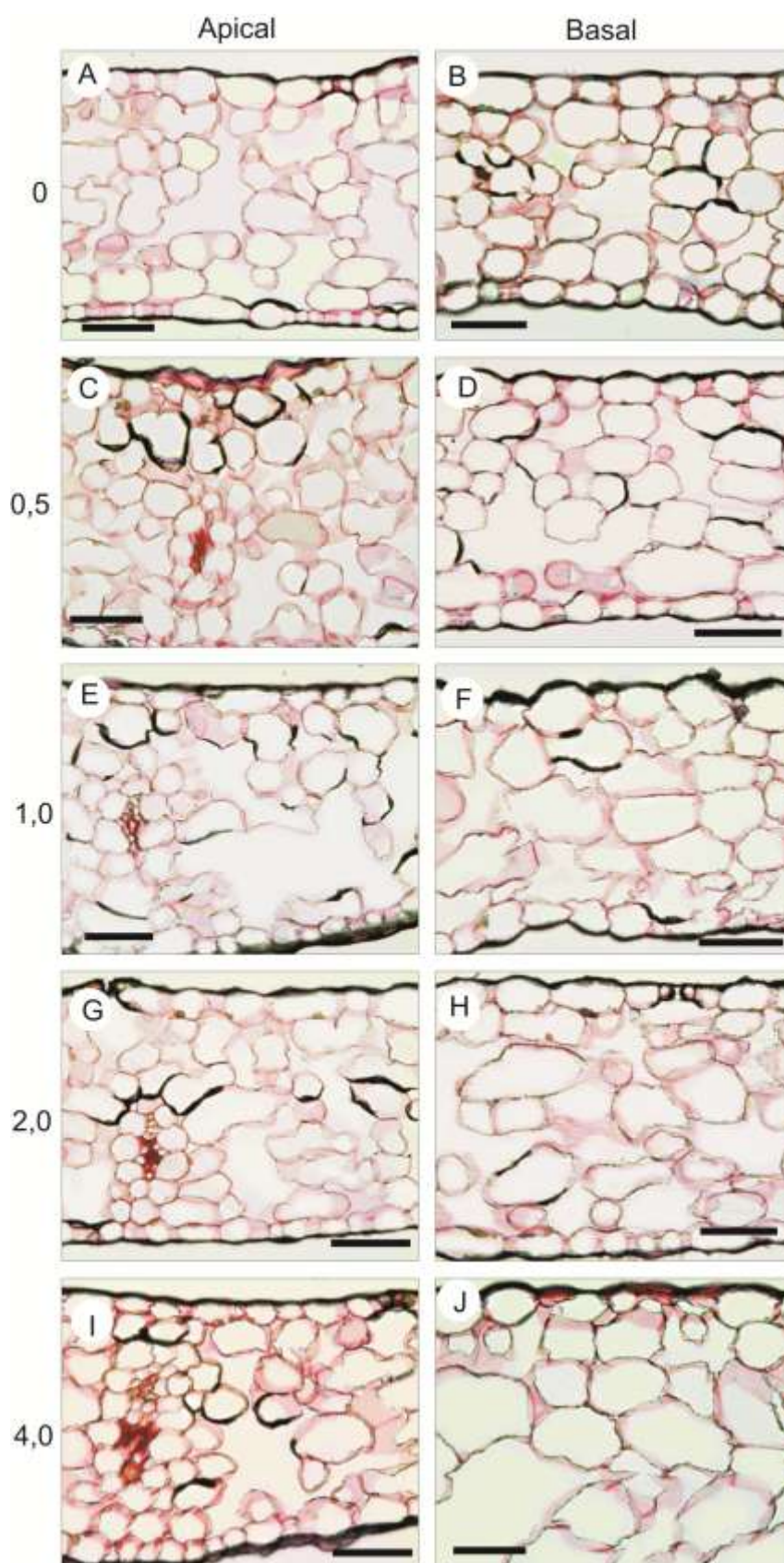
Anexo 07. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com azul de toluidina de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e CaO nas concentrações de: 0,5 L.ha⁻¹ (C, D), 1,0 L.ha⁻¹ (E, F), 2,0 L.ha⁻¹ (G, H) e 4,0 L.ha⁻¹ (I, J).



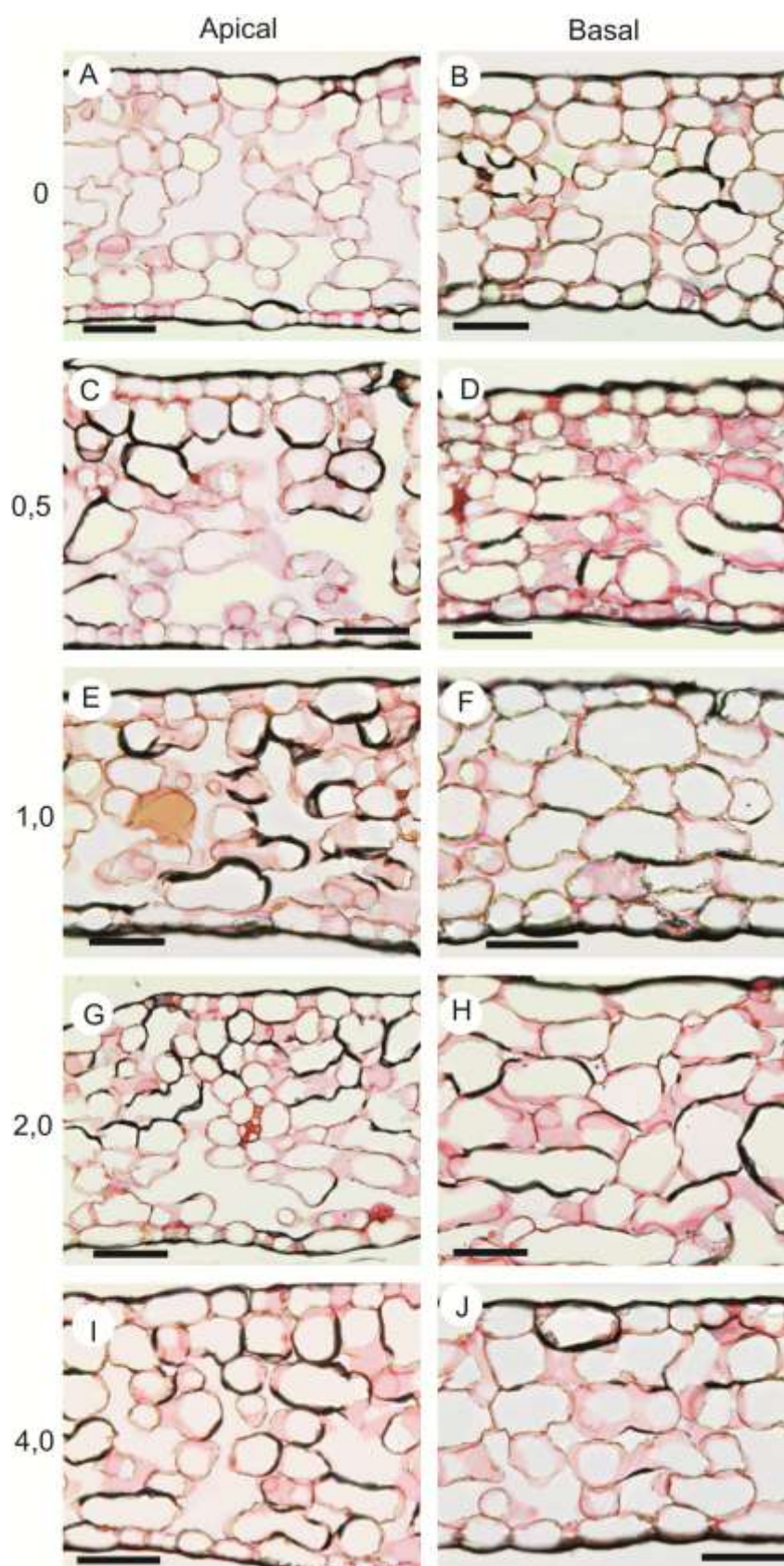
Anexo 08. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com azul de toluidina de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e quelato-Ca nas concentrações de: 0,5 L.ha⁻¹ (C, D), 1,0 L.ha⁻¹ (E, F), 2,0 L.ha⁻¹ (G, H) e 4,0 L.ha⁻¹ (I, J).



Anexo 09. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com vermelho de rutênio de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e CaCl_2 nas concentrações de: 0,5 L.ha^{-1} (C, D), 1,0 L.ha^{-1} (E, F), 2,0 L.ha^{-1} (G, H) e 4,0 L.ha^{-1} (I, J).



Anexo 10. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com vermelho de rutênio de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e CaO nas concentrações de: 0,5 L.ha⁻¹ (C, D), 1,0 L.ha⁻¹ (E, F), 2,0 L.ha⁻¹ (G, H) e 4,0 L.ha⁻¹ (I, J).



Anexo 11. Cortes apicais (A,C, E, G, I) e basais (B, D, F, H, J) corados com vermelho de rutênio de *L. sativa* L. pulverizada com água (A, B) e quelato-Ca nas concentrações de: 0,5 L.ha⁻¹ (C, D), 1,0 L.ha⁻¹ (E, F), 2,0 L.ha⁻¹ (G, H) e 4,0 L.ha⁻¹ (I, J).

3 CAPÍTULO II – INCIDÊNCIA DE QUEIMA DOS BORDOS EM FUNÇÃO DE APLICAÇÕES FOLIARES DE CÁLCIO EM ALFACE

RESUMO

A queima dos bordos é um distúrbio fisiológico que ocorre nas plantas de alface pela deficiência de cálcio no tecido e ocasiona queda na produção e no valor comercial do produto. A aplicação foliar de Ca é indicada como preventivo ao aparecimento dos sintomas, porém sua eficiência é controversa e depende da fonte e dose aplicada. Portanto, o objetivo do trabalho foi testar se a aplicação foliar de cloreto de Ca, óxido de Ca e quelato de Ca diminui a incidência de queima dos bordos em alface crespa. A pulverização de Ca diminuiu a incidência de queima dos bordos e aumentou a produção de massa fresca, porém não interferiu no número de folhas e volume de raiz. A incidência de queima dos bordos não foi afetada pela concentração de Ca no tecido foliar, como observado em espectroscopia de energia dispersiva de raio-X. Concluiu-se que em alface, as três fontes testadas têm potencial para diminuir a incidência de queima dos bordos, se utilizadas na dose correta, mas apenas o CaCl_2 conseguiu também resultar em maior acúmulo de massa fresca.

Palavras-chave: adubação foliar, óxido de cálcio, cloreto de cálcio, quelato de cálcio

INCIDENCE TIPBURN IN LETTUCE IN FUNCTION FOLIAR CALCIUM APPLICATION

ABSTRACT

The tip burn is a physiological disorder that occurs in lettuce plants by calcium deficiency in the tissue and causes drop in production and in the market value of the product. The foliar application of Ca is indicated as a preventive to the appearance of symptoms, but its effectiveness is controversial and depends on the source and the applied dose. Therefore, the objective of this study was to test if foliar application of Ca chloride, Ca oxide and chelate Ca decreases the incidence of tip burn in crisphead lettuce. The Ca pulverization reduced the incidence of tip burn and increased the fresh mass production, but did not affected the number of leaves and root volume. The incidence of tip burn was unaffected by the Ca concentration in the leaf tissue, as observed in a spectroscopy of x-ray's energy dispersive. It was concluded that in lettuce, the three tested sources have the potential to reduce the incidence of tip burn, if used in the correct dose, but only the CaCl_2 could also result in higher fresh mass accumulation.

Keywords: foliar fertilization, calcium oxide, calcium chloride, calcium chelate

3.1 INTRODUÇÃO

A queima dos bordos é um distúrbio fisiológico, que ocorre em diversas hortícolas, ocasionado pela deficiência de Ca no tecido (MARSCHNER, 1995). Ele se caracteriza pelo aparecimento de pontos escuros nos bordos de folhas novas, sintomas nos tecidos jovens com baixa taxa transpiratória, pois o Ca é um macronutriente com baixa mobilidade na planta e seu transporte depende da transpiração (COLLIER E TIBBITSS, 1982; MARSCHNER, 1995; FILGUEIRA, 2003), portanto não é realocado dentro da planta (WHITE e BROADLEY, 2003).

Os precursores apontados pelo aparecimento da queima dos bordos são os que dificultam ou impedem o transporte de Ca até as folhas, como fatores ambientais que estimulam a atividade metabólica das plantas, o que acelera o crescimento e torna o fornecimento de Ca insuficiente, disponibilidade de Ca e condições da solução do solo, formação inadequada de raízes (BARTA e TIBBITTS, 1991; COLLIER E TIBBITSS, 1982; OLLE e BENDER, 2009), ocasionando menor expansão e má formação das folhas (COLLIER E TIBBITSS, 1982; HO e WHITE, 2005; STORY, 2010).

A maior concentração de Ca está acumulada na lamela média da parede celular em forma de pectato de Ca, associado à manutenção da integridade das membranas celulares e rigidez da parede celular (HEPLER, 2005; WHITE e BROADLEY, 2003), portanto a ausência de Ca resulta em colapso e morte celular (HO E WHITE, 2005). Além disso, O Ca está presente no citosol, envolvido em processos fisiológicos como crescimento e sistema de defesa, no vacúolo como contra-íon (WHITE e BROADLEY, 2003) e o excesso precipitado em forma de oxalato de Ca, cristal salino altamente insolúvel (FRANCESCHI E NAKATA, 2005).

Dentre as hortícolas que desenvolvem a queima dos bordos, a alface (*Lactuca sativa* L.) sofre com a diminuição da produção (PEREIRA *et al.*, 2005; SIQUEIRA *et al.*, 2006), depreciação do produto (GARCIA e MENDONÇA, 2010) e prejuízos econômicos (SAURE, 1998).

Como a alface é uma cultura de ciclo curto e sensível à deficiência de Ca, a aplicação foliar de Ca vem sendo utilizada com a finalidade de proporcionar o nutriente diretamente às folhas, superar as condições adversas

do solo, atender a demanda da planta quando esta for maior que a capacidade de absorção das raízes e quando a eficiência dos adubos aplicados via solo é em longo prazo ou limitada pelas condições ambientais (FAGERIA *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ *et al.*, 2013). Dessa forma, a aplicação foliar de Ca vem sendo indicada no cultivo como complemento na adubação para prevenir a queima dos bordos pela rapidez de resposta (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013).

A fonte de Ca e dose utilizada para a pulverização de Ca interferem na eficiência do controle de distúrbios fisiológicos, afinal o desempenho de cada produto é determinado pelas suas propriedades físico-químicas, além de que a dose aplicada interfere na taxa de penetração da solução (FAGERIA *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ *et al.*, 2013; WÓJCIK, 2004). A eficiência da adubação via foliar de Ca é controversa, pois a queima dos bordos pode ser reduzido com aplicações foliares de nitrato de Ca (CHANG *et al.*, 2005; SIQUEIRA *et al.*, 2006) e cloreto de Ca (CHANG *et al.*, 2005), porém podem não apresentar nenhum efeito na redução dos sintomas do distúrbio com aplicações de nitrato de Ca (PEREIRA *et al.*, 2005), cloreto de Ca e quelato de Ca (PEREIRA *et al.*, 2005; ROSEN, 1990). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi testar se a aplicação foliar de três fontes de Ca diluídos em quatro doses diminui a incidência de queima dos bordos em alface crespa.

3.2 MATERIAL E MÉTODO

3.2.1 Condições de crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação. A semeadura de *L. sativa* L. cv. Verônica foi feita em bandejas de poliestireno expandido em fevereiro de 2014. Após 32 dias da emergência das sementes, quatro mudas foram transplantadas para vasos de 2L, preenchidos com os substratos Plantmax®. O substrato apresentou as seguintes características: matéria seca = 73,35 g kg⁻¹; N = 0,35 g kg⁻¹; P₂O₅ = 0,57 g kg⁻¹; K₂O = 0,22 g kg⁻¹; MgO = 2,76 g kg⁻¹; CaO = 1,66 g kg⁻¹.

A irrigação foi realizada para que a capacidade de campo permanecesse em aproximadamente 80%. Os tratamentos foram abastecidos

com a solução nutritiva descrita por Hoagland & Arnon (1950), feita pelo método de diagnose por subtração de Ca.

3.2.2 Desenho experimental

O experimento consistiu em um fatorial com tratamento adicional (3 três fontes de cálcio x 4 doses + controle com aplicação de água). O experimento foi distribuído em arranjo inteiramente casualizado, contendo quatro repetições.

3.2.3 Aplicações foliares de Ca

As aplicações iniciaram 12 dias após o transplante (DAT) e foram realizadas semanalmente até o final do experimento pelo período da manhã. Para a aplicação das fontes de Ca utilizou-se um pulverizador manual, adotando-se vazão de 15,5 mL por planta. Para evitar que a solução aplicada escorresse para as raízes, uma camada de isopor foi colocada sob o vaso.

As fontes de Ca utilizadas foram o cloreto de cálcio (CaCl_2), óxido de cálcio (CaO) e quelato de cálcio (quelato-Ca). O cloreto de cálcio possui 140 g L^{-1} de Ca na forma de CaCl_2 . O produto a base de óxido de cálcio (CaO) é composto por 40 g L^{-1} de Ca, 0,3 g L^{-1} de boro (B), 3,1 g L^{-1} de zinco (Zn) e 6,9 g L^{-1} de nitrogênio (N). O fertilizante mineral misto de quelato de Ca contém Ca e B nas concentrações respectivas de 62 e 6,2 g L^{-1} . As doses utilizadas para cada fonte foram 0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 L ha^{-1} do produto comercial, equivalendo a 1,25, 2,50, 5,00 e 10 mL do produto por litro de água. Sendo assim, a concentração de Ca para CaCl_2 foi 0,175, 0,350, 0,700 e 1,400 g por litro de solução, para CaO 0,05, 0,10, 0,20 e 0,40 e para quelato-Ca 0,08, 0,15, 0,31 e 0,62.

3.2.4 Análises das plantas

Aos 61 DAT, amostras do ápice próximas à nervura central da décima folha emitida de cada planta foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) para análises do tecido foliar. Para análises morfológicas coletou-se a parte aérea e raiz.

Para microscopia de luz as amostras fixadas foram incluídas em glicol-metacrilato (Leica Historresin®, Leica Microsystem, Alemanha),

seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo (Olympus CUT 4055, Triangle Biomedical Sciences, Japão), testadas com vermelho de rutênio (JOHANSEN, 1940) para detecção de substâncias pécticas. Pequenos fragmentos de tecido foram observados com lente polarizada, para detecção de cristais de oxalato de Ca.

Para determinação de elementos químicos, amostras fixadas por tratamento foram desidratadas em série etanólica, secas em ponto crítico com CO₂ e examinadas em espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS) com o microscópio eletrônico de varredura (TSM-6360 LV, Jeol, Japão).

Determinaram-se o número de folhas, massa fresca (g), incidência de queima dos bordos (número de folhas com sintomas/número total de folhas x100) e volume de raiz (cm³).

3.2.5 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à transformação em raiz quadrada e ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para comparação entre os tratamentos realizou-se a análise de variância. Os tratamentos foram comparados ao controle pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade. Para comparação entre as fontes de Ca e doses utilizou-se o teste de Tukey (0,05).

3.3 RESULTADOS

A análise de variância mostra que as variáveis foram significativas para os seguintes fatores de variação: número de folhas para fontes de Ca e doses; massa fresca para fontes de Ca, interação entre fontes e doses e entre fatorial e controle; incidência de queima dos bordos para as fontes de Ca e interação entre o fatorial e controle; e, volume de raiz apenas para as fontes de Ca (tabela 01).

Com relação ao número de folhas e volume de raiz, os tratamentos foram iguais ao controle. Houve significância para ambas as variáveis na comparação das fontes de Ca, onde o CaCl₂ e o CaO resultaram em maior número de folhas e volume de raiz quando comparados ao Quelato-Ca (Tabela 02).

Para a massa fresca, apenas os tratamentos com 1,0 e 2,0 L ha⁻¹ de CaCl₂ foram superiores ao controle, de acordo com o teste Dunnett (0,05). Além disso, houve interação entre as fontes de Ca e as doses. O CaCl₂ resultou em maior produção de massa fresca nas doses 0,5, 1,0 e 2,0 L ha⁻¹, decaindo na dose 4,0 L ha⁻¹. O CaO e Quelato-Ca não apresentaram diferença significativa entre as doses aplicadas (Tabela 03, Figura 01-A).

Os tratamentos que diminuíram a incidência do tipburn, comparados ao controle, foram os 2,0 L ha⁻¹ de CaCl₂; 1,0, 2,0 e 4,0 L ha⁻¹ de CaO; e, 4,0 L ha⁻¹ de Quelato-Ca, variando de 23,5 a 34,8% a 68,5% do controle (Tabela 03, Figura 01-B).

Para a análise de espectroscopia de energia dispersiva, a concentração de Ca (mg g⁻¹ MS) no tecido foliar não apresentou diferença entre os tratamentos (tabela 01, Figura 01-C). O tratamento de 2,0 L ha⁻¹ de quelato-Ca apresentou cristais de oxalato de Ca (Figura 02-D).

Os sintomas de queima dos bordos apareceram em vários estágios de desenvolvimento nos diferentes tratamentos, sendo eles visíveis em tecido com vazamento de conteúdo citoplasmático (Figura 02-A), colapso (Figura 02-B) e necrose das células (Figura 02-C).

3.4 DISCUSSÃO

A aplicação foliar de Ca resultou em melhor desenvolvimento de alface, pois aumentou a produção de massa fresca e diminuiu a incidência de queima dos bordos.

Os tratamentos não apresentaram número de folhas e volume de raiz superiores ao controle. A aplicação de fontes de Ca não interferiu no crescimento da raiz quando comparado ao controle, mostrando que a aplicação foliar afeta diretamente o órgão de exposição (DORDAS, 2009; FERNÁNDEZ *et al*, 2013). Porém, houve diferença entre as três fontes para número de folhas e crescimento radicular, onde os maiores valores encontrados foram nos tratamentos com CaCl₂ e CaO, os quais apresentaram maior crescimento em massa fresca da parte aérea. Portanto, a aplicação foliar interferiu

indiretamente no volume de raiz, pois proporcionou melhor desenvolvimento, requerendo maior volume de raízes para absorção de água e nutrientes.

A pulverização de Ca aumentou o acúmulo da massa fresca nos tratamentos de 1,0 e 2,0 L ha⁻¹ de CaCl₂ pois o Ca foi absorvido e aumentou a concentração do nutriente na célula, possibilitando que ele atuasse na divisão e expansão celular. A aplicação foliar elevou a concentração de Ca e aumentou a taxa de divisão celular, pois o Ca estimula a despolimerização dos microtúbulos durante a anáfase, regulando a taxa de movimento dos cromossomos (ZHANG, 1992). Além disso, o aumento de Ca livre no citosol ativou as ATPases da membrana plasmática, transferindo o excesso de Ca para o vacúolo e liberando íons de hidrogênio para o citosol e parede celular (WHITE e BROADLEY, 2003). Com a acidificação da célula, houve a ativação de enzimas que estimulam a síntese de precursores da parede celular e o aumento da plasticidade da célula, levando a expansão celular, processo similar ao promovido pela auxina (FELLE, 1988; WHITE e BROADLEY, 2003).

A aplicação foliar de Ca mostrou-se eficiente na diminuição da incidência de queima dos bordos. A planta absorveu o Ca e direcionou-o para a formação de paredes celulares, fazendo com que alguns tratamentos conseguissem sintetizar paredes bem estruturadas minimizando o aparecimento dos sintomas. A aplicação de Ca não preveniu completamente a queima dos bordos, pois somente a aplicação foliar não é suficiente para atender a demanda da planta (FERNANDÉZ, 2013).

A aplicação foliar não afetou a concentração de Ca na célula, pois o Ca não ficou acumulado na parede celular, ele foi direcionado para a síntese de novas paredes e para o processos relacionados ao crescimento, aumentando a produção de massa fresca.

O tratamento com 2,0 L ha⁻¹ de quelato-Ca, não diferenciou do controle em nenhuma variável analisada, mostrando que o Ca absorvido foi compartimentalizando nos vacúolos em forma de cristal de oxalato de Ca (MARSCHNER, 1995) (Figura 02-C). A maior dose de quelato-Ca aplicada apresentou menor incidência de queima dos bordos, pois a fixação do Ca em forma de cristais de oxalato de Ca pode ter resultado no aumento da exigência de Ca (WERYSZKO-CHMIELEWSKA E MICHAŁOJC, 2009) para diminuir o aparecimento dos sintomas.

Nesse trabalho, a incidência de queima dos bordos não esteve associada à concentração de Ca na parede celular. Portanto, os sintomas de queima dos bordos apareceram em virtude do cultivo ser em casa de vegetação na estação do verão, caracterizado por altas temperaturas e altos níveis de radiação, os quais elevaram a atividade metabólica da planta resultando em rápido crescimento (COLLIER E TIBBITSS, 1982; ROSEN, 1990). Durante o desenvolvimento, a cultura exigiu fornecimento de Ca contínuo e adequado, porém o crescimento foi acelerado e taxa de absorção da solução foi menor (BARTA e TIBBITTS, 2000). Houve insuficiência de Ca para o desenvolvimento de novos tecidos, resultando em fraca estruturação da parede celular e baixa integridade das membranas, o que resultou em colapso das células e sintomas visíveis (figura 02-A, B e C) (COLLIER e TIBBITTS, 1982).

Sendo assim, o meio de cultivo interfere no aparecimento dos sintomas de queima dos bordos (OLLE e BENDER, 2009), pois em ambiente protegido e controlado a planta possui maior taxa de crescimento do que a campo, o que favorece o aparecimento de lesões (BARTA e TIBBITTS, 1991; FRANTZ *et al.*, 2004). Além disso, o aparecimento de queima dos bordos está associado com a época do ano de cultivo (SCAIFE e CLARKSON, 1978; ROSEN, 1990), devido aos fatores ambientais como luz, fotoperíodo e temperatura e fatores relacionados ao solo, como umidade, matéria orgânica, equilíbrio dos cátions e oxigenação e ao desenvolvimento da planta, como gás carbônico, fotoperíodo, radiação, umidade relativa e disponibilidade de água (COLLIER E TIBBITSS, 1982; OLLE e BENDER, 2009).

3.5 CONCLUSÃO

O distúrbio fisiológico queima dos bordos, apesar de ser ocasionado pela deficiência de Ca em alface, não está associado à concentração de Ca na parede celular, e sim a fatores relacionados ao crescimento da planta.

As três fontes de Ca utilizadas em doses corretas foram eficientes para minimizar a incidência de queima dos bordos. A aplicação foliar de Ca

nesse trabalho não preveniu o aparecimento dos sintomas, pois o crescimento foi superior à taxa de absorção das folhas.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro e ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barta, D.J., Tibbitts, T.W.* (1991): Calcium localization in lettuce leaves with and without tipburn: comparasion of controlled-environment and field-grown plants. *J Am Soc Hortic Sci.* 116, 870-875.
- Chang, Y. C., Grace-Martin, K., Miller, W. B.* (2004): Efficacy of Exogenous Calcium Applications for Reducing Upper Leaf Necrosis in Liliun ‘Star Gazer’. *Hortscience.* 39, 2, 272–275.
- Chéour, F., Willemot, C., Arul, J., Desjardins, Y., Makhlouf, J., Charest, P.M., Gosselin, A.* (1990): Foliar application of calcium chloride delays postharvest ripening of strawberry. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 115, 789–792.
- Collier, G.F., Tibbitts, T.W.* (1982): Tipbum of lettuce. *Hort. Rev.* 4, 49-65.
- Dordas, C.* (2009): Foliar application of calcium and magnesium improves growth, yield, and essential oil yield of oregano (*Origanum vulgares* ssp. *hirtum*). *Ind Crop Prod.* 29, 599-608.
- Fageria, N. K.; Filhoa, M. P. B.; Moreirab, A.; Guimaresa, C. M.* (2009): Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.*, 32 (6), 1044 –1064.
- Felle, H.* (1988): Auxin causes oscillations of cytosolic calcium and pH in Zea mays coleoptiles. *Planta.* 174 495-499.
- Fernández, V., Sotirtopoulos, T., Brown, P.* (2013): Foliar fertilization, Scientific Principles and Field Practice. International Fertilizer Industry Association (IFA), Paris, France. 144p.
- Filgueira, F. A. R.* (2003): Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, Brasil. 412p.

- Franceschi, V. R., Nakata, P. A. (2005): Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annu Rev Plant Biol.*, 56, 41-71.
- Garcia, V.C., Mendonça, R. M. (2010): Desempenho, sintomas de deficiência de cálcio e sensibilidade ao pendoamento de quatro cultivares de alface crespa em cultivo hidropônico. *Hortic. Bras.* 28: S285- S291.
- Frantz, J. M., Ritchie, G., Cometti, N. N., Robinson, J., Bugbee, B. (2004): Exploring the limits of crop productivity: beyond the limits of tipburn in lettuce. *J Am Soc Hortic Sci.* 129, 331-338.
- Hepler, P. K. (2005): Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. *Plant Cell.* 17, 2142-2155.
- Ho, L.C., White, P.J. (2005): A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Ann Bot.* 95, 571–581.
- Hoagland, D.R.; Arnon, D. I. (1950): The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p.
- Johansen, D. A. (1940): Plant microtechnique. Mc Graw Hill, New York. United States. 530p.
- Karnovsky, M. J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27, 137-138.
- Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London. 889p.
- Olle, M., Bender, I. (2009): Causes and control of calcium deficiency disorders in vegetables: a review. *J Hortic Sci Biotech.* 84 (6), 577-584.
- Pereira, C., Junqueira, A. M. R., Oliveira, S.A. (2005): Balanço nutricional e incidência de queima de bordos em alface produzida em sistema hidropônico – NFT. *Hortic. Bras.* 23 (3), 810-814.
- Rosen, C. J. (1990): Leaf Tipburn in Cauliflower as Affected by Cultivar, Calcium Sprays, and Nitrogen Nutrition. *Hortscience*, 5(6), 660-663.
- Saure, M. C. (1998): Causes of the tipburn disorder in leaves of vegetables. *Sci Hort.* 76, 131-147.
- Scaife M. A., Clarkson D. T. (1978): Calcium-related disorders in plants-a possible explanation for the effect of weather. *Plant Soil.* 50, 723-725.

- Singh, R., Sharma, R. R., Tyagi, S. K. (2007): Pre-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality os strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). s. 112, 215-220.
- Siqueira, C. H., Barbosa, M. S., Martine, H. E. P., Pereira, P. R. G., Fontes, P. C. R. (2006): Efeito da aplicação foliar de cálcio e tetracloreto de titânio sobre a ocorrência de “tip burn” em plantas de alface. *Biosci. J.*, 22 (2), 17-23.
- Story, D., Kacira, M., Kubota, C., Akoglu, A., An, L. (2010): Lettuce calcium deficiency detection with machine vision computed plant features in controlled environments, *Comput Electron Agr.* 74, 238-243.
- Weryszko-Chmielewska, E.; Michałojć, Z. (2009): Anatomical features of leaves of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fed with calcium using foliar nutrition. *Acta Agrobot.* 62 (2), 155–164.
- White, P. J., Broadley, M. R. (2003): Calcium in plants. *Ann Bot.* 92 (4), 487-511.
- Wojcik, P. (2004): Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 12, 201-218.
- Zhang, D.H., Wadsworth, P., And Hepler, P.K. (1992): Modulation of anaphase spindle microtubule structure in stamen hair cells of *Tradescantia* by calcium and related agents. *J. Cell Sci.* 102, 79–89.

Tabela 01. Análise de variância para as variáveis de número de folhas, massa fresca (g), incidência de tipburn (%) e volume de raiz (cm³) de em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	<i>p</i>				
		Número de folhas	Massa Fresca (g)	Incidência de Queima dos bordos (%)	Volume de Raiz (cm ³)	Concentração de Ca
Fontes de Ca (F)	2	0,002	<0,001	<0,001	0,014	0,298
Doses (D)	3	0,022	0,110	0,151	>0,050	0,246
F x D	6	0,177	0,026	0,314	>0,050	0,782
Fatorial x Controle	1	>0,05	0,045	0,001	0,188	1,343
Tratamentos	12	0,006	<0,001	0,001	0,142	0,614
Coeficiente de Variação		3,68	6,71	39,13	11,40	12,88

Tabela 02. Número de folhas, volume de raiz e incidência de queima dos bordos de em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

Fontes de Ca	Número de folhas	Volume de Raiz (cm ³)	Incidência de Queima dos bordos (%)
CaCl₂	24,44 a	42,08 ab	52,6 a
CaO	24,78 a	51,58 a	28,0 b
Quelato de Ca	22,62 b	38,83 b	37,2 b

*Letras maiúsculas comparam médias entre as fontes de Ca e doses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 03. Massa fresca e incidência de queima dos bordos em alface resultantes em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

Doses (L ha ⁻¹)	Fontes de Ca		
	CaCl₂	CaO	Quelato de Ca
Massa Fresca (g)			
0,5	189,89 a AB	160,47 ab A	148,64 b A
1,0	218,67 a A +	190,78 a A	131,30 b A
2,0	199,13 a A +	172,17 ab A	157,30 b A
4,0	154,18 a B	176,01 a A	143,01 a A
Controle	145,66		
Incidência de Queima dos bordos (%)			
0,5	61,0	37,3	39,2
1,0	68,8	23,5 -	38,9
2,0	34,8 -	26,7 -	39,9
4,0	45,7	24,6 -	31,8 -
Controle	68,5		

Letras minúsculas comparam médias entre os produtos. Letras maiúsculas comparam médias entre as doses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (0,05);

+ Significativo e superior ao controle, - Significativo e inferior ao controle: pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

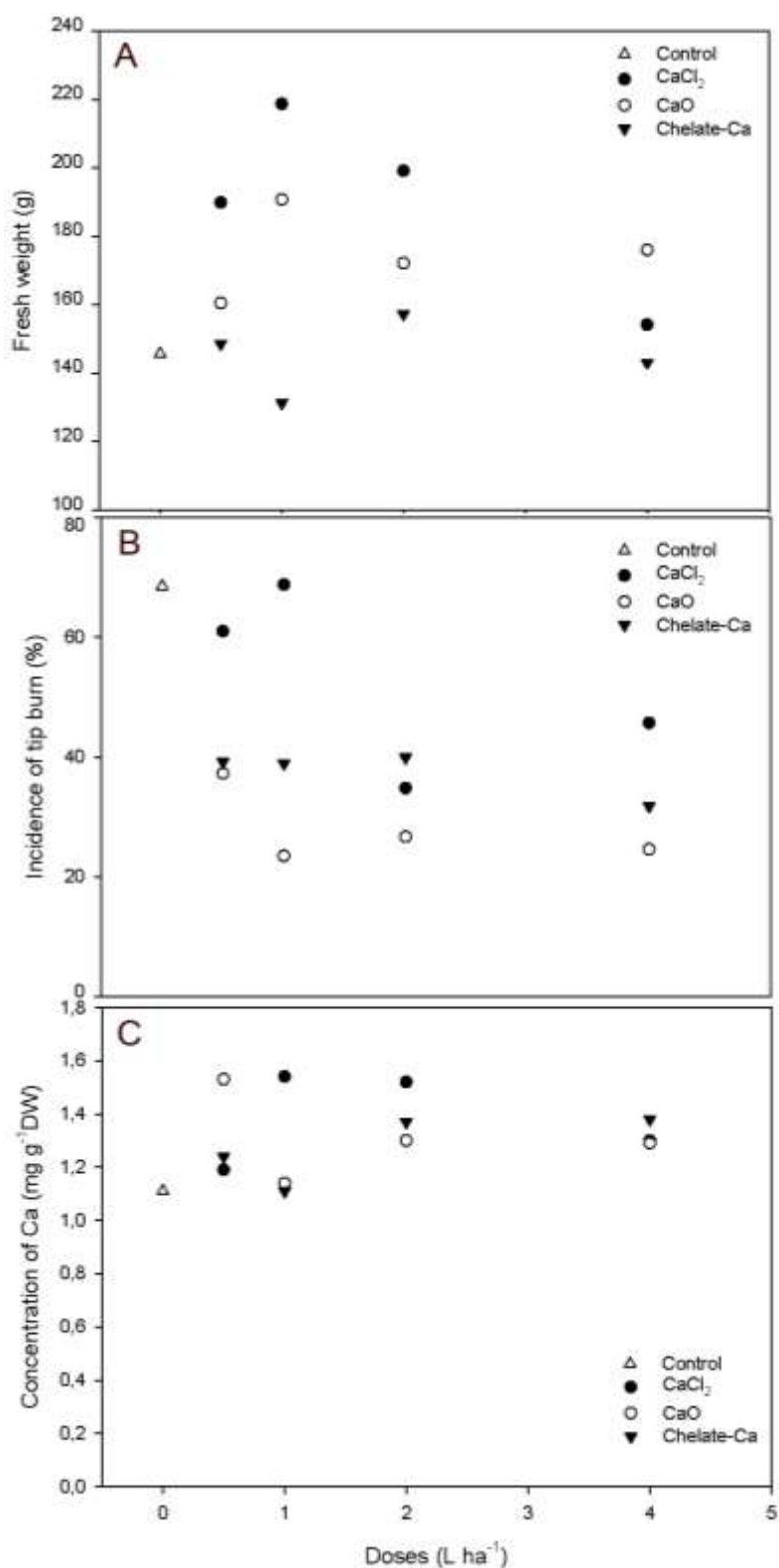


Figura 01. Massa fresca (A), incidência de queima dos bordos (B) e concentração de Ca na folha (C) em alface resultantes da aplicação foliar de três fontes de Ca aplicadas em quatro doses com adicional do controle.

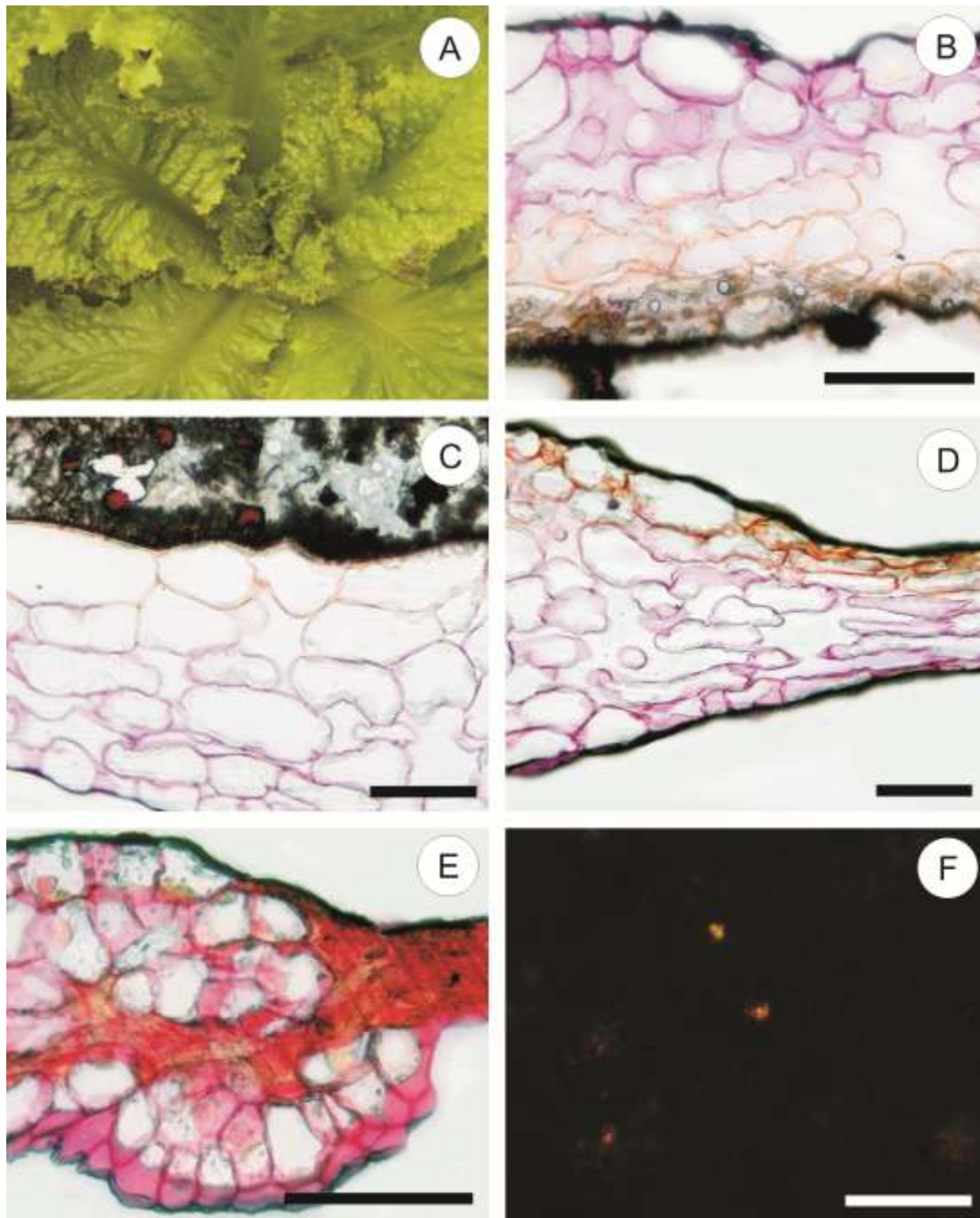
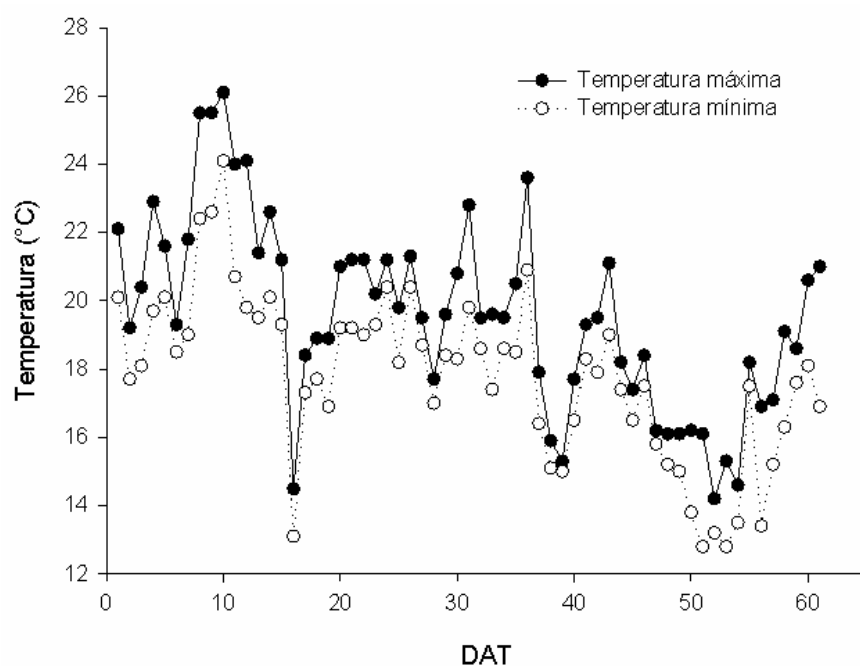
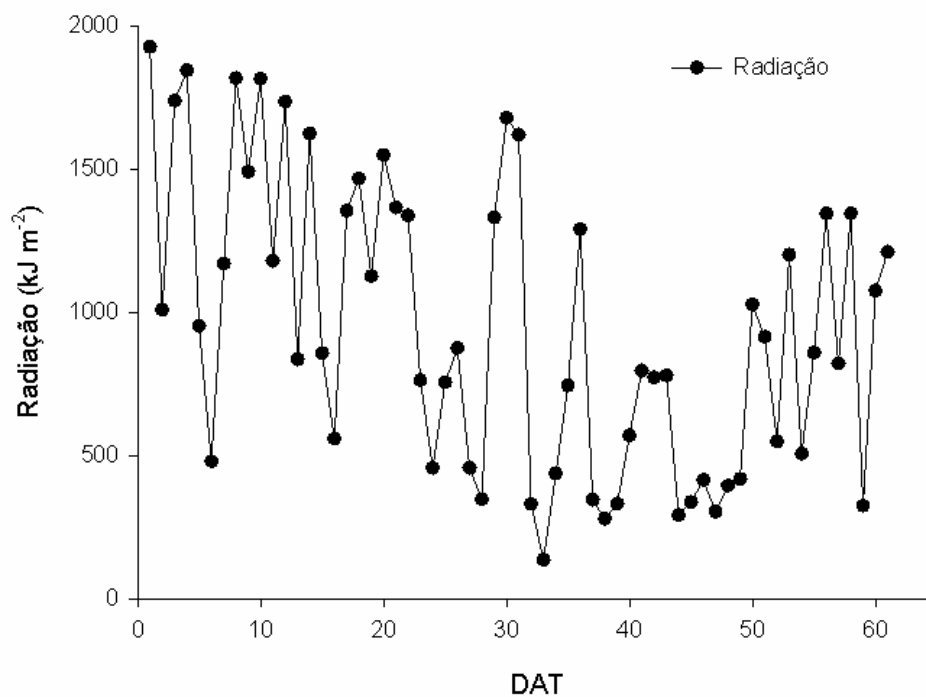


Figura 02. Folhas com sintomas de queima dos bordos: visual (A), vazamento de conteúdo citoplasmático (B, C), colapso das células (D), morte celular (E); folha com cristais de oxalato de Ca (F) resultante da aplicação foliar de quelato-Ca aplicada na dose $2,0 \text{ L ha}^{-1}$.

ANEXOS



Anexo 12 – Temperatura máxima (°C) e temperatura mínima (°C) no período de 07 de março a 07 de maio de 2014. (Fonte: INMET, 2014)



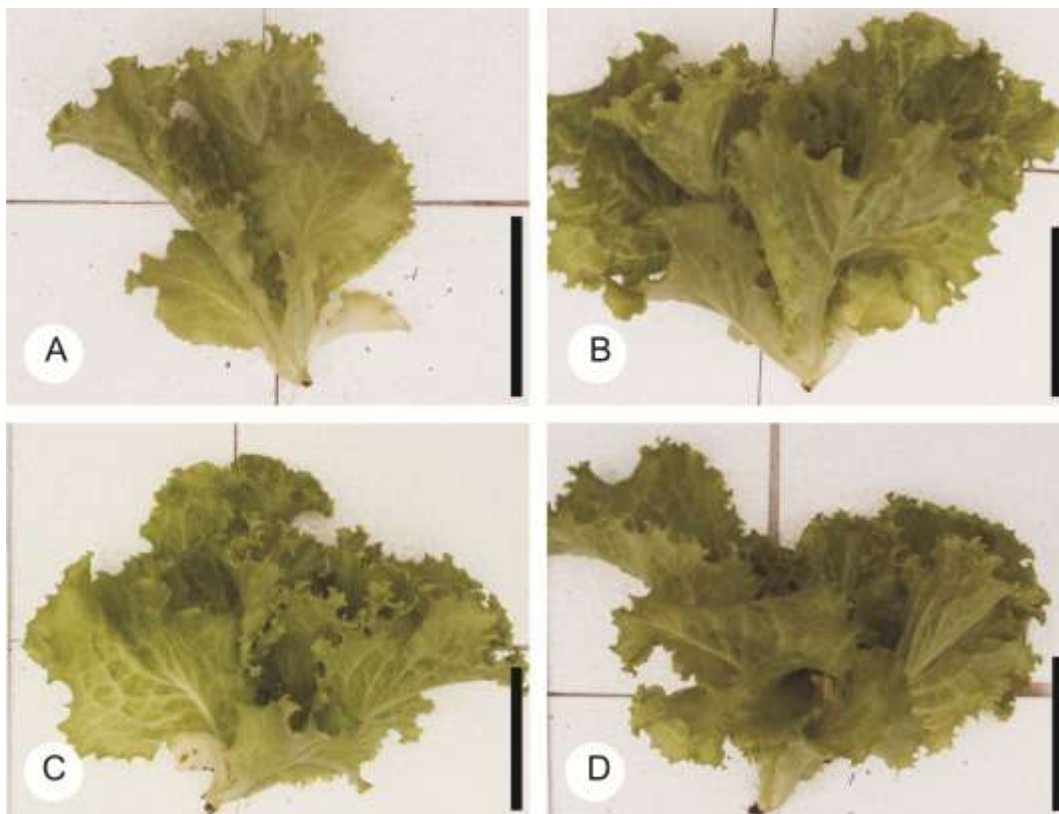
Anexo 13 – Radiação (kJ.m⁻²) no período de 07 de março a 07 de maio de 2014. (Fonte: INMET, 2014)

Anexo 14 – Composição da solução nutritiva descrita por Hoagland & Arnon (1950), feita pelo método de diagnose por subtração de cálcio.

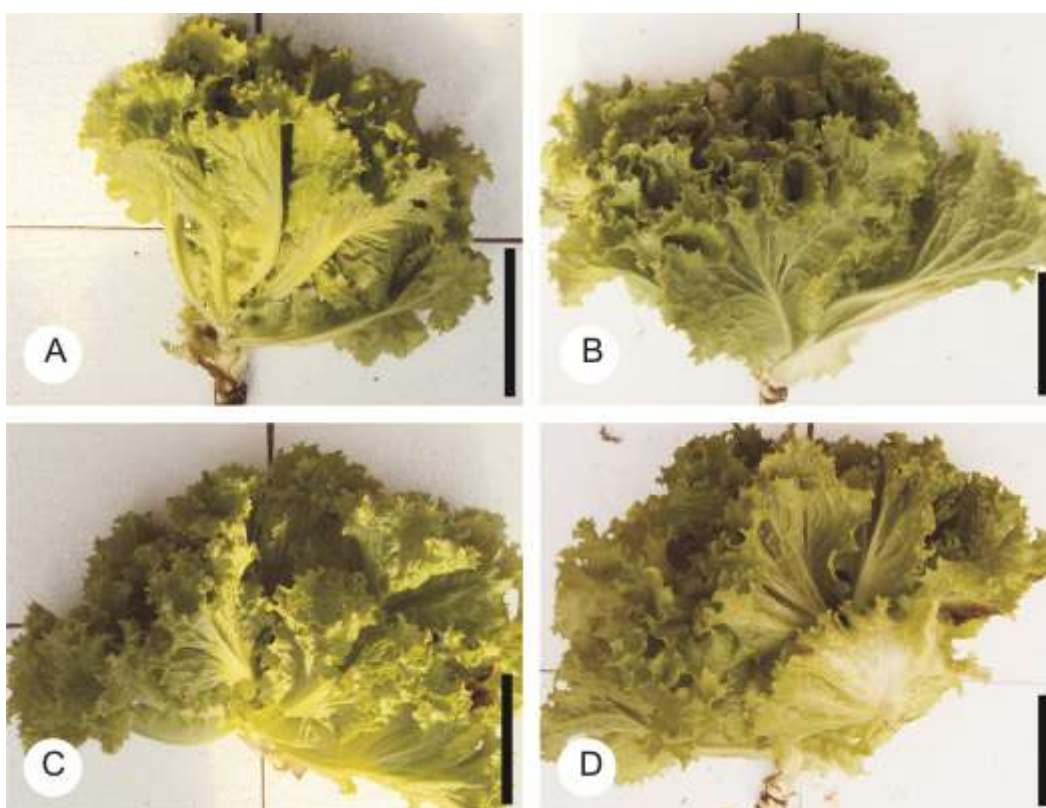
Composto químico	Quantidade (g.L⁻¹)	Quantidade (mL.L⁻¹ H₂O)
KH ₂ PO ₄	136,09	1
KNO ₃	101,11	5
MgSO ₄ .7H ₂ O	247,47	2
Solução de micros:		
H ₃ BO ₃	2,86	
Mn Cl ₂ . 4H ₂ O	1,81	
ZnCl ₂	0,1	1
CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,02	
H ₂ Mo O ₄ (85% MoO ₃)	0,02	
Solução Fe EDTA:		
FeSO ₄ .7H ₂ O	24,9	
EDTA-Na	33,2	1
NaOH 1N	89	
NH ₄ NO ₃	80,04	5



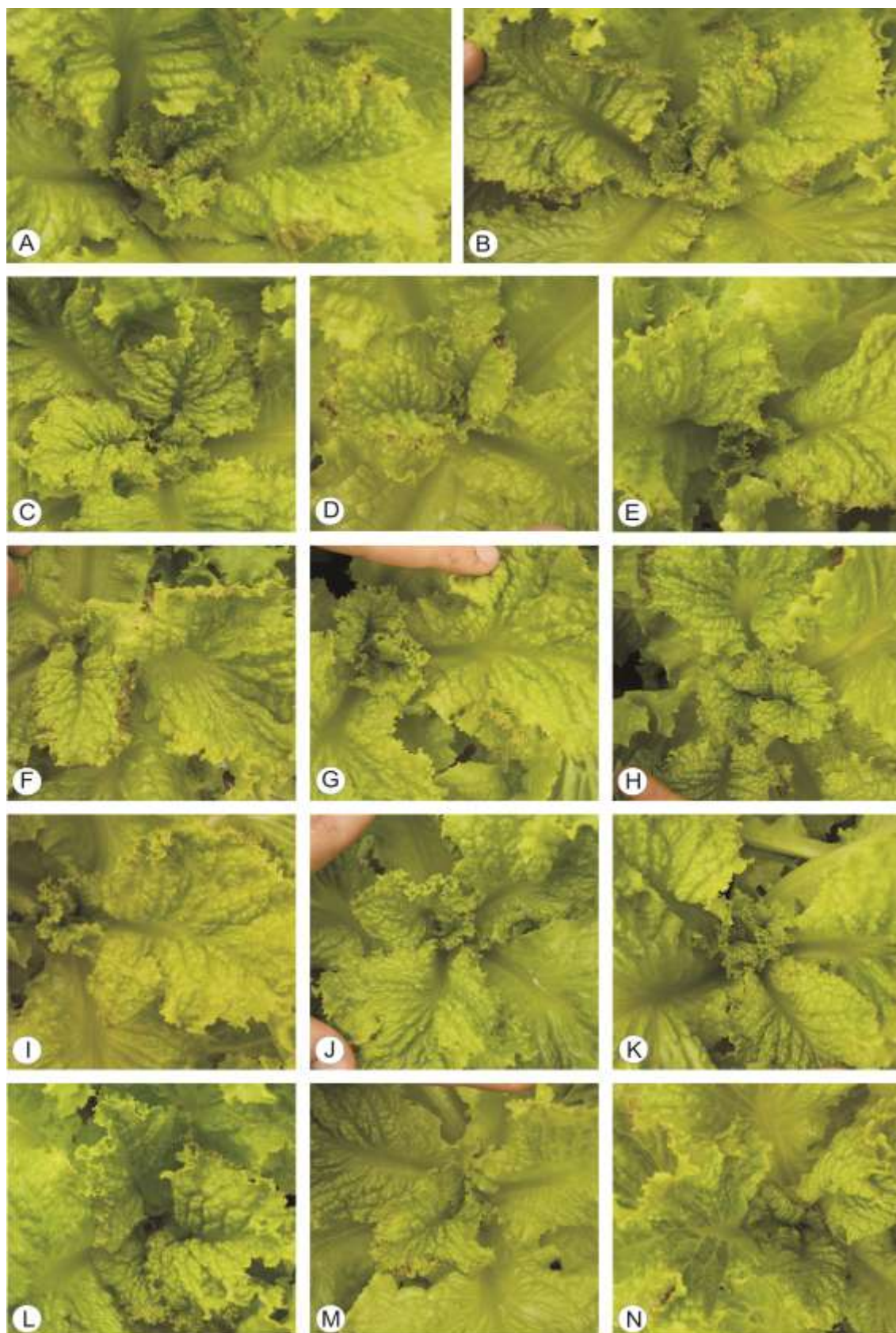
Anexo 15 – *L. sativa* L. cv. Verônica pulverizadas com CaCl_2 , CaO e Quelato-Ca. A, B, C – Método de aplicação, com cobertura do solo com isopor e pulverizador manual. D, E, F – Plantas aos 24 DAT. G, H, I – Plantas aos 39 DAT. J, K, L – Plantas aos 55 DAT.



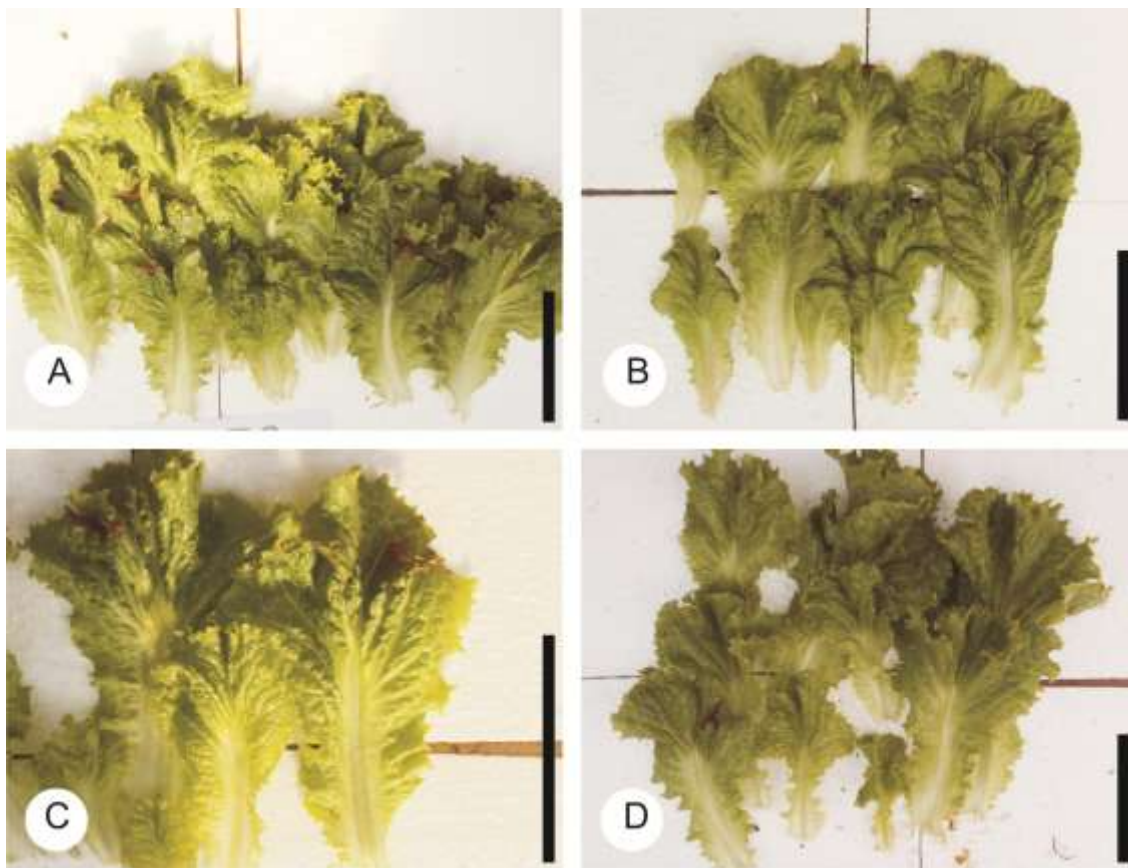
Anexo 16 – *L. sativa* L. pulverizadas com água (A), 1,0 L.ha⁻¹ de CaCl₂ (B) e CaO (C) e 2,0 L.ha⁻¹ de Quelato-Ca (D) coletadas 27 dias após o transplante em vasos. 10 cm.



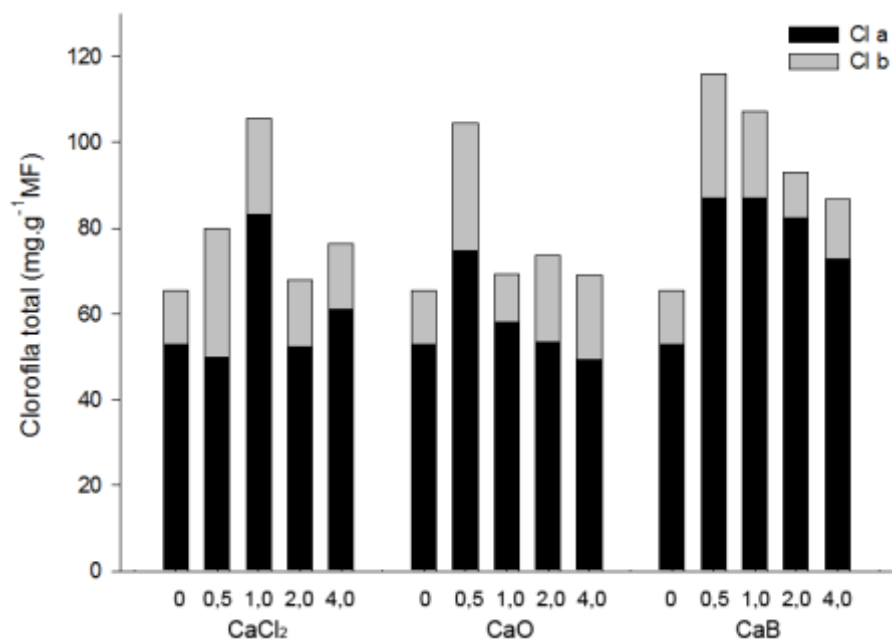
Anexo 17 – *L. sativa* L. pulverizadas com água (A) e 1,0 L.ha⁻¹ de CaCl₂ (B), CaO (C) e Quelato-Ca (D) coletadas 61 dias após o transplante em vasos. 10 cm.



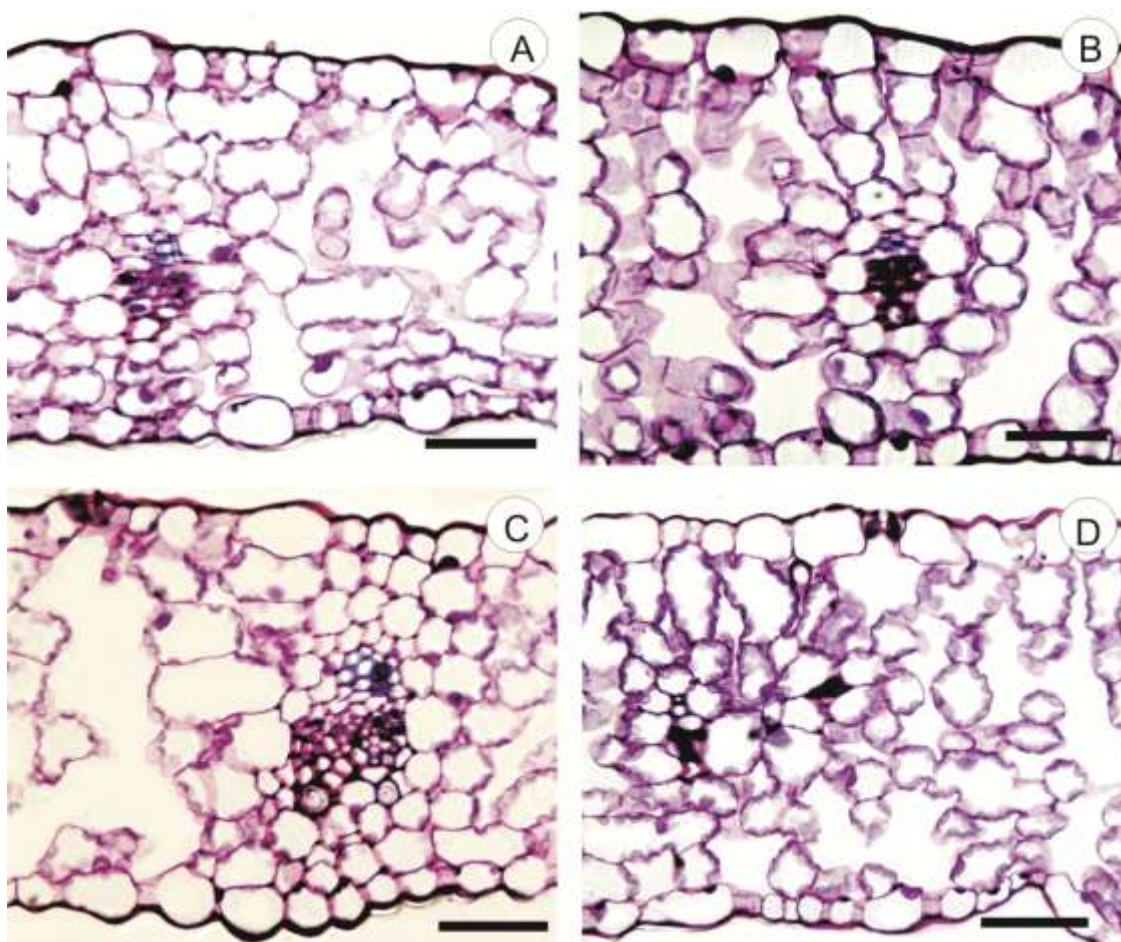
Anexo 18 – Visão do interior da cabeça da alface mostrando sintomas de queima dos bordos. A, B – testemunha. C, D, E – CaCl_2 , CaO e Quelato-Ca na concentração de $0,5 \text{ L.ha}^{-1}$. F, G, H – CaCl_2 , CaO e Quelato-Ca na concentração de 1 L.ha^{-1} . I, J, K – CaCl_2 , CaO e Quelato-Ca na concentração de 2 L.ha^{-1} . L, M, N – CaCl_2 , CaO e Quelato-Ca na concentração de 4 L.ha^{-1} .



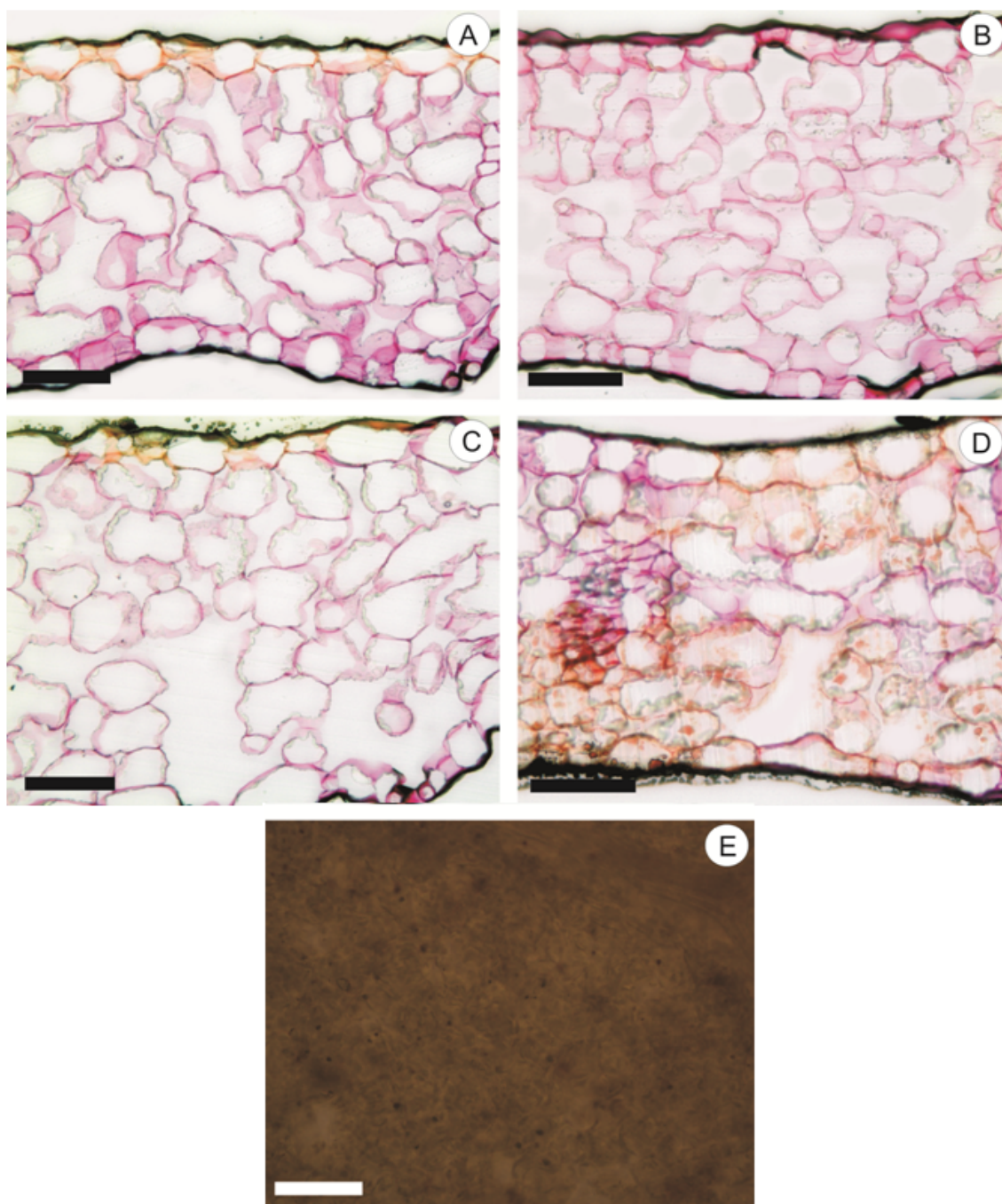
Anexo 19 – Tratamentos com incidência de queima dos bordos. A – Testemunha. B – $2,0 \text{ L.ha}^{-1} \text{ CaCl}_2$. C – $1,0 \text{ L.ha}^{-1}$ de CaO. D – $2,0 \text{ L.ha}^{-1}$ de Quelato-Ca. 10 cm.



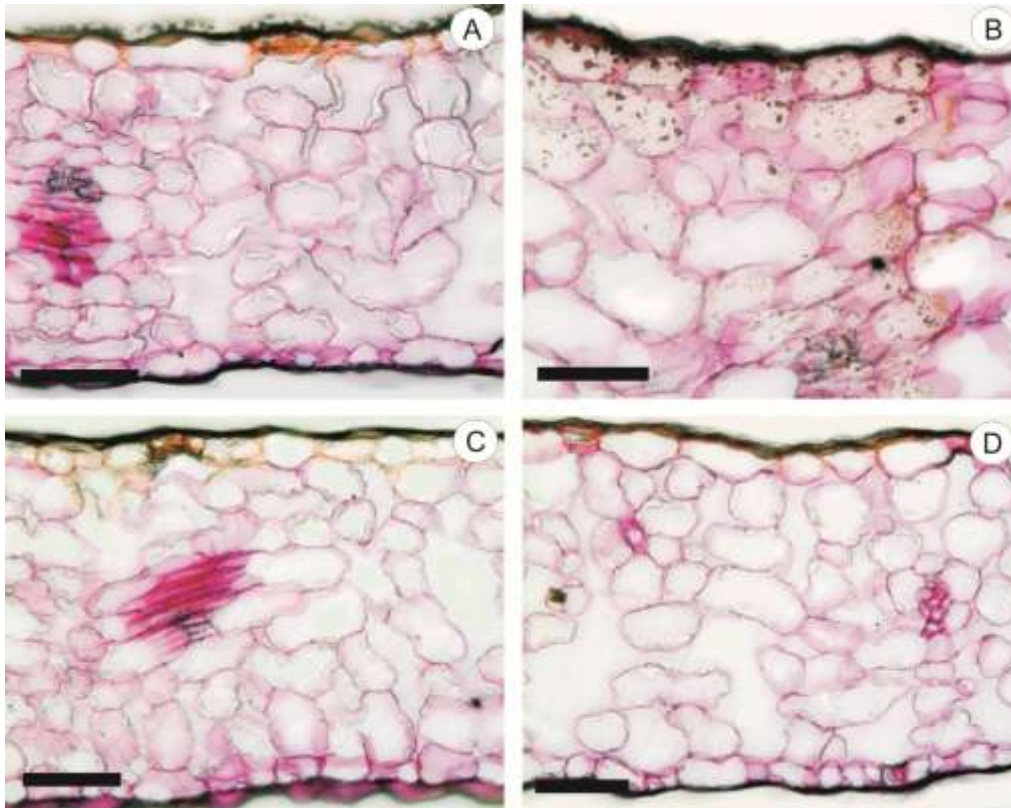
Anexo 20. Teor de clorofila total de uma repetição ($\text{mg.g}^{-1} \text{MF}$) na folha 10 de alface cv. Verônica pulverizadas com três fontes de Ca (CaCl_2 , CaO, Quelato-Ca), diferenciando clorofila a e b.



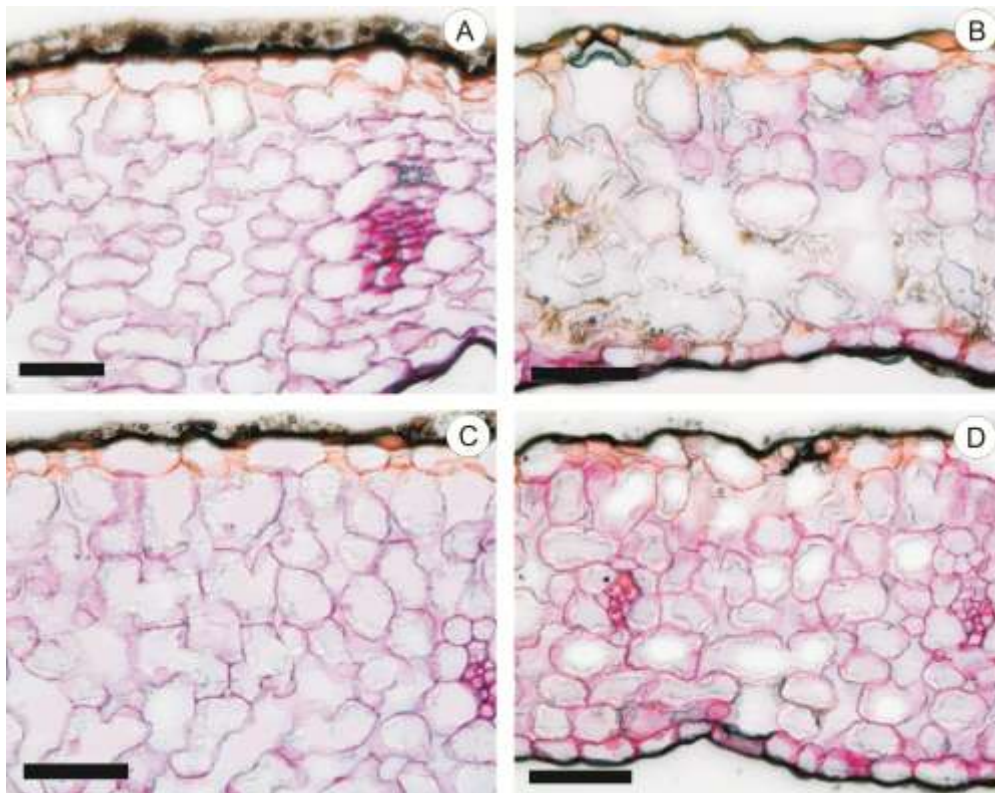
Anexo 21. Cortes apicais corados com azul de toluidina de *L. sativa* L. pulverizadas com água (A) e 2,0 L.ha⁻¹ de CaCl₂ (B), CaO (C) e quelato-Ca (D). 50μm.



Anexo 22. Cortes de alface testados com vermelho de rutênio pulverizada com CaCl_2 demonstrando sintomas de queima dos bordos nas doses de: A – 0,5 L ha⁻¹. B – 1,0 L ha⁻¹. C – 2,0 L ha⁻¹. D – 4,0 L ha⁻¹, E – Tecido foliar de alface pulverizada com 2,0 L ha⁻¹ de CaCl_2 . 50 μm .



Anexo 23. Cortes de alface testados com vermelho de rutênio pulverizada com CaO demonstrando sintomas de queima dos bordos nas doses de: A – 0,5 L ha⁻¹. B – 1,0 L ha⁻¹. C – 2,0 L ha⁻¹. D – 4,0 L ha⁻¹. 50µm.



Anexo 24. Cortes de alface testados com vermelho de rutênio pulverizada com quelato-Ca demonstrando sintomas de queima dos bordos nas doses de: A – 0,5 L ha⁻¹. B – 1,0 L ha⁻¹. C – 2,0 L ha⁻¹. D – 4,0 L ha⁻¹. 50µm.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A aplicação foliar de Ca é eficiente considerando a fonte e a dose a serem utilizadas.
- A fonte recomendada pela eficiência para as plantas de alface é a de CaCl_2 , desde que utilizada nas doses indicadas de 1,0 e 2,0 L ha⁻¹.
- As fontes com CaO e quelato-Ca são produtos que possuem moléculas complexas e patenteadas por empresas, tendo alto custo para o produtor e não apresentando diferenças significativas em relação à fonte de CaCl_2 .
- O distúrbio fisiológico queima dos bordos, apesar de ser ocasionado pela deficiência de Ca em alface, não está associado à concentração de Ca na parede celular, e sim a fatores relacionados ao crescimento da planta.
- As três fontes de Ca utilizadas em doses corretas foram eficientes para minimizar a incidência de queima dos bordos.
- A aplicação foliar de Ca nesse trabalho não preveniu o aparecimento dos sintomas, pois o crescimento foi superior à taxa de absorção das folhas.
- Cada fonte possui formulações e propriedades químicas distintas, o que interferiu na taxa de absorção do Ca pela planta e, consequentemente, na taxa de controle.